

**PENGARUH PENAMBAHAN MOLASE PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

**OLEH:
IZZATUL LAYLI MAULIDIYAH AGASHA
NIM. 14630061**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH PENAMBAHAN MOLASE PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

**OLEH:
IZZATUL LAYLI MAULIDIYAH AGASHA
NIM. 14630061**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH PENAMBAHAN MOLASE PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT OLEH *Weissella confusa***

SKRIPSI

**Oleh:
IZZATUL LAYLI MAULIDIYAH AGASHA
NIM. 14630061**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 25 Juni 2021**

Pembimbing I:



**Anik Maunatin, S.T., M.P
NIDT. 197601105 20180201 2 248**

Pembimbing II:



**M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



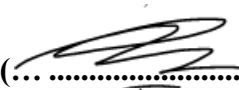

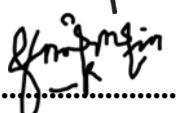

**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

**PENGARUH PENAMBAHAN MOLASE PADA AIR KELAPA
TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT OLEH *Weissella confusa***


SKRIPSI

**Oleh:
IZZATUL LAYLI MAULIDIYAH AGASHA
NIM. 14630061**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 Juni 2021**

Penguji Utama	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P	()
	NIP. 19750410 200501 2 009	
Ketua Penguji	: Susi Nurul Khalifah, M.Si	()
	NIP. 19851020 201903 2 012	
Sekretaris Penguji	: Anik Maunatin, S.T., M.P	()
	NIDT. 197601105 20180201 2 248	
Anggota Penguji	: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I	()
	NIPT. 20142011409	

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**



**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Izaatul Layli Maulidiyah Agasha
NIM : 14630061
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : PENGARUH PENAMBAHAN MOLASE PADA AIR
KELAPA TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT
OLEH *Weissella confusa*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila ini di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 26 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,



Izaatul Layli Maulidiyah Agasha
NIM. 14630061

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT akhirnya bisa menyelesaikan tugas akhir ini. Tanpa kehendakNya dan dukungan dari orang-orang sekitar saya tidak bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Oleh karena itu, saya ingin mempersembahkan tulisan ini untuk :

Kedua orang tua saya, Bapak gangsar dan alm.Ibu Sriharti, kakak-kakak saya mbak atik, mbak ani, mbak ana, mbak shalma, mbak ririn dan mas ratno yang telah memberikan segala bentuk dukungan mulai dari awal masuk kuliah sampai akhirnya bisa memperoleh gelar sarjana ini. Terimakasih untuk segalanya, mungkin kiranya tulisan ini hanya sebagian kecil hal yang bisa saya persembahkan, karena semua kebaikan kalian takkan bisa terbalaskan dengan apapun. Semoga senantiasa diberikan kesehatan, kebahagiaan serta umur yang panjang. Aamiin...

Bapak ibu dosen khususnya ibu Anik Maunatin, S.T., M.P, Ibu Dr.Akyunul Jannah, S.Si., M.P, Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si dan Bapak M.Mukhlis Fahrudin, M.S.I yang telah memotifasi, memberikah arahan dan membimbing dengan sangat sabar selama ini. Dari proses pembelajaran selama S-1 ini saya lebih bisa mengerti dan memahami ilmu kimia dengan baik. Semoga kebaikan Bapak dan Ibu Dosen mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Aamiin...

Seluruh teman-teman kimia khususnya Hanan, Merinda, Riski, mbak Intan dan Taya yang menjadi teman seperjuangan selama penelitian. Untuk Puja, Hilmi, Aan, Lana, Ponti dan semua teman-teman kimia-C terimakasih untuk segala bantuan supportnya. Semoaga Allah memberikan keberkahan atas segala yang kita kerjakan selama ini dan semoga apa yang menjadi cita-cita kita semua untuk bisa menjadi orang yang berhasil bisa terwujud. Aamiin...

MOTTO

**"I hear and I forget. I see and I remember, I do and I
understand "**

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT. Yang hanya dengan rahmat, hidayah serta inayah-Nya penulisan skripsi dengan judul “**Pengaruh Penambahan Molase Pada Air Kelapa Terhadap Produksi Asam Laktat oleh *Weissella confusa***” dapat diselesaikan. Penulis menyadari bahwa selama proses penulisan proposal penelitian ini tidak lepas dari peranberbagai pihak. Oleh karena ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak dan alm.Ibu selaku orang tua saya, yang senantiasa mendidik serta mendoakan saya, kepada kakak-kakak saya dan keluarga besar saya yang selalu memberikan dukungan baik moril maupun materil, serta kepada suami dan anak saya tercinta yang selalu memberikan kekuatan rasa dan motifasi dalam penulisan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. H. Abdul Haris M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN)Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN MaulanaMalik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua jurusan kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
5. Ibu Anik Maunatin, S.T., M.P selaku dosen wali yang senantiasa sabar dan memberikan pengarahan serta nasihat, seluruh dosen Kimia UIN Malannng yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat, dan Laboran Kimia UIN Malang yang bersedia membantu jalannya penelitian ini.
6. Ibu Anik Maunatin, S.T., M.P selaku pembimbing, Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si selaku konsultan, Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku penguji dan Bapak M. MukhlisFahrudini, M.S.I selaku pembimbing agama yang senantiasa sabar memberikan waktu, bimbingan, pengalaman, pengarahan dan ilmu yang bermanfaat.
7. Teman-teman mahasiswa kimia angkatan 2014 yang telah memberikan banyak warna dalam menemani hari-hari belajar dan mendalami ilmu kimia. Kepada adik-adik tingkat Hanan, Merinda, Rahma yang memberikan ruang untuk berdiskusi dan bertukar pemikiran tentang penelitian, memberikan

motivasi , membantu jalannya penelitian serta berjuang bersama dalam suka maupun duka.

8. Kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama proses penulisan skripsi ini yang tidak bisa kami sebutkan satu per satu.

Teriring doa serta harapan semoga apa yang beliau berikan kepada penulis mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT, aamiin yaa robbal aalamiin. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga dapat memberikan manfaat kepada para pembaca dan khususnya bagi penulis. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Malang, 17 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث.....	xvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Kelapa	7
2.2 Asam Laktat	8
2.3 Fermentasi Asam Laktat	9
2.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi efisiensi fermentasi	12
2.5 Konsentrasi Inokulum	12
2.6 <i>Weissella confusa</i>	13
2.7 Pengukuran Kadar Total Gula Metode Sulafat Fenol	15
2.8 Pengukuran Total Asam Laktat Metode Titrimetri.....	16

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.2.1 Alat	17
3.2.2 Bahan	18
3.3 Rancangan Penelitian.....	18
3.4 Tahap Penelitian	19
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	19
3.5.1 Penentuan Kadar Total Gula dengan Metode Fenol H ₂ SO ₄	19
3.5.1.1 Pembuatan Kurva Standar	19
3.5.1.2 Penentuan Total Gula Sampel.....	19
3.5.2 Pembuatan Media MRSA dan MRSB	20
3.5.3 Regenerasi Bakteri Asam Laktat	20
3.5.4 Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat.....	20
3.5.5 Pengaruh Penambahan Molase pada Air Kelapa terhadap Produksi Asam	

Laktat oleh <i>Weissella confusa</i>	21
3.5.6 Analisis Kadar Asam Laktat dengan Metode Titrimetri.....	21
3.5.7 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat	21
3.5.8 Analisa Data	22

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel	23
4.2 Penentuan Total Gula Bahan Baku	24
4.3 Pembuatan Media MRSA dan MRSB.....	25
4.4 Regenerasi <i>Weissella confusa</i>	26
4.5 Pembuatan Inokulum	27
4.6 Pengaruh Konsentrasi Molase terhadap Produksi Asam Laktat	28
4.7 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat	32
4.8 Tinjauan Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	33

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36

DAFTAR PUSTAKA	37
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	41
----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur Fermentasi Bakteri Asam Laktat	13
Gambar 2.2 <i>Weissella confusa</i>	14
Gambar 4.1 Kurva Standar Glukosa	25
Gambar 4.2 Isolat <i>Weissella confusa</i>	27
Gambar 4.3 Inokulum <i>Weissella confusa</i>	28

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Air Kelapa Muda dan Air Kelapa Tua.....	9
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Molase	18

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	41
Lampiran 2 Diagram Alir	42
Lampiran 3 Pembutan Larutan.....	47
Lampiran 4 Dokumentasi.....	57

ABSTRAK

Agasha, I.L.M. 2021. **Pengaruh Penambahan Molase Pada Media Air Kelapa Terhadap Produksi Asam Laktat Oleh *Weissella confusa***. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Anik Maunatin, S.T., M.P, Susi Nurul Khalifah, M.Si dan M. MukhlisFahrudin, M S.I.

Kata Kunci : asam laktat, air kelapa , molase, *Weissella confusa*.

Asam laktat merupakan asam hidroksikarboksilat yang memiliki banyak manfaat. Asam ini banyak digunakan pada industri makanan, obat-obatan dan kosmetik. Selain itu, asam laktat juga merupakan bahan baku pembuatan *Polylactic Acid* (PLA) yang bersifat *biodegradable* dan dapat digunakan sebagai bahan pembuatan plastik yang ramah lingkungan. Pada penelitian ini digunakan molase sebagai bahan baku dalam produksi asam laktat oleh *Weissella confusa*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan molase pada media air kelapa terhadap produksi asam laktat oleh *Weissella confusa*.

Penelitian dilakukan menggunakan media air kelapa dengan variasi konsentrasi molase 5, 10 dan 15%. Penentuan kadar asam laktat dilakukan dengan metode titrasi dan penentuan kadar total gula sampel menggunakan metode sulfat fenol. Selanjutnya dilakukan perhitungan total BAL dengan metode *Total Plate Count* (TPC) untuk menentukan jumlah BAL yang digunakan dalam produksi asam laktat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar asam laktat tertinggi dihasilkan pada penambahan molase 15% yaitu sebesar 0,84%. Kadar total gula molase yang diidentifikasi dengan metode sulfat-fenol yaitu 53,83%. Jumlah BAL paling maksimal dihasilkan pada media fermentasi 10% yaitu $1,9 \times 10^{10}$ CFU/mL.

ABSTRACT

Agasha, I.L.M. 2021. **Effect of Addition of Molasses to Coconut Water Media on Lactic Acid Production by *Weissella confusa***. Seminar Results. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Anik Maunatin, S.T., M.P, Susi Nurul Khalifah, M.Si, M. Mukhlis Fahrudin, M S.I.

Keywords: lactic acid, coconut water, molasses, *Weissella confusa*.

Lactic acid is a hydroxycarboxylic acid that has many benefits. This acid is widely used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. In addition, lactic acid is also a raw material for the manufacture of Polylactic Acid (PLA) which is biodegradable and can be used as an environmentally friendly plastic material. In this study, molasses was used as a raw material in the production of lactic acid by *Weissella confusa*. The purpose of this study was to determine the effect of adding molasses to coconut water media on the production of lactic acid by *Weissella confusa*.

The research was carried out using coconut water as a medium with various concentrations of molasses 5, 10 and 15%. Determination of acid content is done by titration method and determination of sugar content of samples using sulfate method. Then, the total BAL was calculated using the Total Plate Count (TPC) method to determine the amount of BAL used in the production of lactic acid.

The results showed that the highest levels of lactic acid produced by the addition of 15% molasses was 0.84%. The total sugar content of molasses identified by the sulfate-phenol method was 53.83%. The maximum amount of LAB produced in 10% fermentation media is 1.9×10^{10} CFU/mL.

مستخلص البحث

أغاشا ، إ. ل. م. ٢٠٢١. تأثير إضافة دبس السكر إلى وسط ماء جوز الهند على إنتاج حمض اللاكتيك بواسطة فايسيللا كونفوسا. البحث العلمي. قسم الكيمياء ، كلية العلوم و التكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك ابراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفون: أنيك معونة ، س. ت. الماجستير ، سوسي نور الخليفة الماجستير ، و مخلص فخر الدين الماجستير.

الكلمات المفتاحية: حمض اللاكتيك ، ماء جوز الهند ، دبس السكر ، فايسيللا كونفوسا

حمض اللاكتيك هو حمض هيدروكسي كربوكسيلي له فوائد عديدة. يستخدم هذا الحمض على نطاق واسع في الصناعات الغذائية و الأدوية ومستحضرات التجميل. بالإضافة إلى ذلك ، يعد حمض اللاكتيك أيضاً مادة خام لتصنيع عديد حمض اللبنيك (*Polylactic Acid*) القابل للتحلل البيولوجي و يمكن استخدامه كمواد بلاستيكية صديقة للبيئة. في هذه الدراسة ، تم استخدام دبس السكر كمادة خام في إنتاج حمض اللاكتيك بواسطة فايسيللا كونفوسا. الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير إضافة دبس السكر إلى وسط ماء جوز الهند على إنتاج حمض اللاكتيك بواسطة فايسيللا كونفوسا.

تم إجراء البحث باستخدام وسط ماء جوز الهند بتركيزات مختلفة من دبس السكر ٥ و ١٠ و ١٥٪. تم تحديد مستويات حامض اللاكتيك بطريقة المعايرة و تحديد محتوى السكر الكلي للعينة باستخدام طريقة كبريتات الفينول. بعد ذلك ، تم حساب إجمالي بكتيريا حمض اللبنيك باستخدام طريقة إجمالي عدد الصفائح (*TPC*) لتحديد كمية بكتيريا حمض اللبنيك المستخدمة في إنتاج حمض اللاكتيك.

أظهرت النتائج أن أعلى مستويات حمض اللاكتيك تم إنتاجها بإضافة ١٥٪ دبس السكر و التي كانت ٠,٨٤٪. كان محتوى السكر الكلي في دبس السكر الذي تم تحديده بواسطة طريقة كبريتات الفينول ٥٣,٨٣٪. الحد الأقصى لمقدار بكتيريا حمض اللبنيك المنتج في وسط تخمير ١٠٪ هو ١,٩ X ١٠^{١٠} CFU/مل.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam laktat (*2-hydroxypropanoic acid*) merupakan asam hidroksi organik dengan rumus $C_3H_6O_3$ yang merupakan turunan asam karboksilat dan paling banyak terdapat di alam. Asam laktat berada dalam bentuk dua isomer optik yaitu, D(-) dan L(+) atau campuran dari kedua isomer optik tersebut membentuk reseмик DL-asam laktat. DL-asam laktat bersifat amorf dan tidak aktif secara optik sehingga tidak banyak diproduksi, sedangkan D(-) dan L(+) memiliki kemurnian yang tinggi dan aktif secara optik sehingga memiliki banyak manfaat (Sobrun, dkk., 2012). Beberapa manfaat asam laktat adalah dapat digunakan sebagai asidulan, pengawet dalam industri makanan, obat-obatan dan tekstil (Taleghani, dkk., 2014). Asam laktat juga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan *Polylactic Acid* (PLA) yang bersifat *biodegradable* yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan plastik yang ramah lingkungan. PLA diperoleh dari polimerisasi asam laktat dengan kemurnian optik yang tinggi. Oleh karena itu, asam laktat dalam bentuk murni yaitu L(+) atau D(-)-asam laktat cocok digunakan sebagai bahan baku pembuatan PLA dibandingkan dengan asam laktat dalam bentuk reseмик DL-asam laktat (Msyuya, dkk., 2017).

Asam laktat dapat diproduksi dengan cara sintesis dan fermentasi. Produksi asam laktat dengan proses fermentasi memiliki keunggulan dibandingkan dengan proses sintesis, salah satunya yaitu asam laktat yang dihasilkan dari proses sintesis merupakan asam laktat dalam bentuk campuran reseмик sedangkan asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi menghasilkan D- asam laktat atau L+ asam

laktat tergantung strain yang dipakai (Srivastava, 2014). Selain itu keuntungan produksi asam laktat dengan fermentasi adalah suhu produksi yang rendah, harga bahan baku yang rendah dan dapat diperoleh dari berbagai sumber karbon (Buyondo dan Shijie, 2011).

Produksi asam laktat dengan jalur fermentasi membutuhkan bahan yang mengandung kadar gula yang tinggi, oleh karena itu tetes tebu atau yang biasa disebut dengan molase sangat cocok digunakan sebagai substrat dalam fermentasi. Tetes tebu merupakan limbah yang dihasilkan oleh pabrik gula yang mempunyai kadar gula yang masih tinggi sehingga berpotensi untuk membantu proses fermentasi. Kandungan gula dalam tetes tebu diantaranya glukosa dan fruktosa 21,7 %, sukrosa 34,19 %, air 26,46 % dan abu 17,26 % (Tarigan, 2009). Bahan baku pembuatan asam laktat dapat berasal dari gula dalam bentuk murni seperti glukosa, sukrosa, laktosa, gula yang berasal dari molase pati-patian, selulosa dan gliserin sisa biodiesel (Lasprilla, Martinez dkk., 2012). Air kelapa mengandung glukosa sehingga berpotensi digunakan sebagai media dalam fermentasi asam laktat.

Air kelapa sebagai penyedia sumber protein tinggi sekaligus pemberi gula, akan tetapi kecil sehingga perlu ditambahkan dengan molase. Komponen nutrisi yang penting dalam air kelapa adalah gula. Air kelapa mengandung gula sederhana yang dapat menjadi sumber karbon bagi mikroorganisme (Pranayanti dan Aji, 2015). Konsentrasi kandungan gula dalam air kelapa yaitu glukosa 0,5%, fruktosa 0,61% dan sukrosa 0,67% (Seesuriyachan, dkk., 2011). Allah SWT menciptakan alam dan isinya seperti tumbuh-tumbuhan mempunyai hikmah yang amat besar. Sebagai contoh adalah pengolahan limbah air kelapa menjadi asam laktat.

Pemanfaatan limbah air kelapa dan tetes tebu dapat membantu menjaga kelestarian lingkungan agar tidak menjadi rusak. Menurut Suhardiyono (1988), air kelapa yang sering dibuang ke parit dapat menimbulkan pembentukan endapan hitam dan berbau tidak sedap. Oleh karena itu air kelapa dimanfaatkan dalam produksi asam laktat oleh bakteri asam laktat *Weissella confusa*. Hal ini sangat sesuai dengan Firman Allah SWT dalam QS. Ar Rum 41 :

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي

عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ

Artinya “ Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar) Q.S Ar-Rum:41)”

Pengaruh limbah tetes tebu dan air kelapa dapat mencemari lingkungan, maka dari itu manusia seharusnya sebagai kholifah di muka bumi bisa mencari solusi untuk permasalahan ini. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah mengolah limbah air kelapa dan tetes tebu menjadi produk yang lebih bermanfaat. Melalui perkembangan ilmu dan teknologi, tanaman penghasil gula tidak hanya dikonsumsi secara langsung (air kelapa dan molase), namun dapat pula digunakan sebagai media dan bahan baku dalam proses memproduksi asam laktat yang memiliki banyak manfaat baik untuk kehidupan manusia.

Asam laktat dihasilkan dengan proses fermentasi melalui pemecahan karbohidrat menjadi bentuk glukosanya kemudian glukosa tersebut diubah menjadi asam laktat dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat

(Buckle, K et al. 1987). Salah satu jenis BAL yang digunakan dalam fermentasi asam laktat adalah *Weissella confusa*. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa produksi asam laktat menggunakan substrat molase menghasilkan asam laktat yang tinggi seiring dengan penambahan konsentrasi molase yang diberikan. Choelo et al. (2011) melaporkan produksi asam laktat oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* dengan substrat molase dan diperoleh konsentrasi asam laktat maksimum sebesar 94,8 g/L atau setara dengan 9,48%. Al-asady (2012) melakukan penelitian produksi asam laktat dari dedak gandum menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* dan diperoleh asam laktat sebesar 95,2 g/L atau setara dengan 9,52%.

Keberhasilan dalam proses fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya substrat, konsentrasi inokulum, pH dan lama fermentasi. Substrat memiliki peranan penting karena substrat merupakan energi yang dibutuhkan oleh starter mikroba untuk melakukan fermentasi (Astawan, 1991). Pengaruh konsentrasi substratawal pada proses fermentasi ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan Farooq et al (2012) produksi asam laktat menggunakan substrat molase dengan variasi konsentrasi substrat 6-24% oleh bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dan diperoleh kadar asam laktat tertinggi 77,6 g/L pada perlakuan konsentrasi substrat 18%. Pengaruh lama fermentasi ditunjukkan pada penelitian Purnavita et al (2014) yang melakukan penelitian produksi asam laktat dari limbah ampas pati aren oleh *Lactobacillus casei* dengan variasi konsentrasi inokulum 10% - 30% dan waktu fermentasi 10-20 jam. Diperoleh kadar asam laktat tertinggi yaitu 0,91 g/L pada perlakuan konsentrasi inokulum sebesar 30% dan waktu fermentasi selama 20 jam.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa konsentrasi substrat mempunyai peranan penting dalam proses pembuatan asam laktat. Konsentrasi substrat merupakan kajian yang sangat penting dikembangkan agar proses fermentasi dapat berjalan secara optimum dengan kadar asam laktat yang dihasilkan cukup tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum substrat dalam menghasilkan kadar asam laktat yang tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana pengaruh penambahan molase pada media airkelapa terhadap produksi asam laktat oleh *Weissella confusa* ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penambahan molase pada media air kelapa terhadap produksi asam laktat oleh *Weissella confusa*

1.4 Batasan Masalah

1. Variasi konsentrasi molase adalah 5%, 10% dan 15%.
2. Limbah air kelapa yang digunakan adalah kelapa tua dari pedagang pasar Landungsari Malang.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat mengetahui konsentrasi molase yang optimum terhadap produksi asam laktat dari air kelapa oleh *Weissella confusa* sekaligus untuk memanfaatkan limbah air kelapa dan molase untuk diolah menjadi produk yang lebih bermanfaat. Selain itu manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Bagi peneliti, hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai sumber informasi dan referensi dalam pengembangan penelitian yang berkaitan dengan produksi asam laktat dari limbah air kelapa dan molase.
- Bagi masyarakat, hasil penelitian ini dapat memberikan tambahan ilmu pengetahuan dan wawasan yang lebih luas mengenai pemanfaatan limbah air kelapa dan molase menjadi produk yang lebih bermanfaat.
- Bagi universitas, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi penambahan ilmu pengetahuan, khususnya bagi mahasiswa kimia serta menjadi bahan bacaan di perpustakaan universitas dan dapat memberikan referensi bagi mahasiswa lain.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Air Kelapa

Produksi air kelapa cukup berlimpah di Indonesia yaitu mencapai lebih dari 1 sampai 900 juta liter per tahun. Pemanfaatan air kelapa belum terlalu maksimal, sehingga masih banyak air kelapa terbuang percuma. Selain mubazir, buangan air kelapa dapat menimbulkan polusi asam asetat akibat proses fermentasi dari limbah air kelapa tersebut. Air kelapa mengandung sejumlah zat gizi, yaitu protein 0,2 %, lemak 0,15%, karbohidrat 7,27 %, gula, vitamin, elektrolit dan hormon pertumbuhan. Kandungan gula maksimum 3 gram per 100 ml air kelapa. Jenis gula yang terkandung adalah sukrosa, glukosa, fruktosa dan sorbitol. Gula-gula inilah yang menyebabkan air kelapa muda lebih manis dari air kelapa yang lebih tua (Warisno, 2004).

Air kelapa juga mengandung mineral seperti kalium dan natrium. Mineral-mineral itu diperlukan dalam proses metabolisme dan pembentukan kofaktor enzim-enzim ekstraseluler oleh bakteri pembentuk selulosa. Selain mengandung mineral, air kelapa juga mengandung vitamin-vitamin seperti riboflavin, tiamin, biotin. Vitamin-vitamin tersebut sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan maupun aktivitas *Acetobacter xylinum* pada saat fermentasi berlangsung sehingga menghasilkan selulosa bakteri. Oleh sebab itu air kelapa dapat dijadikan sebagai bahan baku untuk pembuatan selulosa bakteri atau *natade coco*, disamping untuk memanfaatkan limbah air kelapa juga dapat mengurangi dampak negatif yang diakibatkan oleh limbah air kelapa tersebut (Pambayun, 2002).

Sifat kimia air kelapa ditentukan oleh nilai pH, keasaman total dan gula

reduksi. Derajat keasaman atau pH digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman yang dimiliki oleh suatu larutan. Air kelapa memiliki kisaran pH 4,5-5,3 per 100 ml air kelapa. Asam-asam organik yang terdapat pada air kelapa dapat mempengaruhi perubahan pH air kelapa. Komposisi gula reduksi air kelapa yaitu sekitar 1,7 - 2,6% (Santoso, 1996)

Buah kelapa yang terlalu muda belum memiliki daging buah dan air kelapa muda rasanya lebih manis mengandung mineral 4 %, gula 2%. Perbandingan komposisi air kelapa muda dengan air kelapa tua dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1. Komposisi Air Buah Kelapa.

Zat Gizi (dalam 100 gram)	Air kelapa muda	Air kelapa tua
Kalori	17,0 kal	-
Protein	0,2 g	0,14 g
Lemak	1,0 g	1,5 g
Karbohidrat	3,8 g	4,6 g
Kalsium	15,0 g	-
Fosfor	8,0 g	0,5 g
Besi	0,2 g	-
Air	95,5 mg	91,5 mg
Bagian yang dapat dimakan	100,0 g	-

Sumber (Palungkun, 1992)

2.2 Asam Laktat

Asam laktat (*2-hydroxypropanoic acid*) adalah asam hidroksi organik yang tersebar secara luas di alam. Asam laktat memiliki tiga karbon asam organik, satu atom karbon merupakan bagian dari asam atau grup karboksil, atom karbon lain merupakan bagian dari grup *methyl* atau hidrokarbon dan atom karbon yang di pusat

memiliki sebuah gugus alkohol. Asam laktat dalam larutan dapat melepaskan sebuah proton dari gugus asam, menghasilkan ion laktat $\text{CH}_3(\text{OH})\text{COO}^-$ (Narayanan, 2004). Asam laktat merupakan asam *chiral* (asam asimetris) yang memiliki dua isomer optikal yaitu L(+) *lactic acid* dan D(-) *lactic acid*. Hanya asam laktat jenis L(+) *lactic acid* (*sarcoplactic acid*, *paralactic acid*) ditemukan dalam tubuh manusia (Jin Bo dkk., 2005).

Asam laktat memiliki tingkat keasaman yang sederhana dibandingkan bahan pengasam makanan yang lain, *GRAS* (*Generally Regarded As Safe*) rasa dan baunya tidak tajam dan dinyatakan sebagai bahan pengawet yang aman oleh FDA di USA (Vickroy, 1985 dalam Manfaati, 2010). Karakteristik tersebut menyebabkan asam laktat sesuai untuk mengawetkan susu, daging, telur dan makanan laut. Selain itu bentuk garam dari asam laktat seperti ammonium laktat digunakan dalam industri makanan ternak sebagai suplemen nitrogen karena terbukti lebih baik dibandingkan dengan sumber nitrogen non protein lain (J.M Dominguez dkk., 2005). Asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi berwarna agak kekuningan dan mengandung residu dari gula dan sumber nitrogen (Vickroy, 1985).

2.3 Fermentasi Asam Laktat

Fermentasi merupakan degradasi biologis substrat oleh mikroorganisme menjadi metabolit seperti etanol, asam sitrat dan asam laktat. Asam laktat diproduksi dari monosakarida atau disakarida yang dipecah melalui jalur glikolisis. Proses fermentasi untuk mendapatkan asam laktat dapat diklasifikasikan sesuai dengan jenis bakteri yang digunakan. Fermentasi bisa berlangsung secara aerob dan

anaerob (Matsumo dan Taguci, 2010). Pada kondisi anaerob, proses glikolisis akan menghasilkan asam piruvat yang kemudian diubah menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase. Kisaran pH untuk memproduksi asam laktat adalah 5,4-6,4 dan suhu 37-42°C serta konsentrasi oksigen rendah (Abate, 2016).

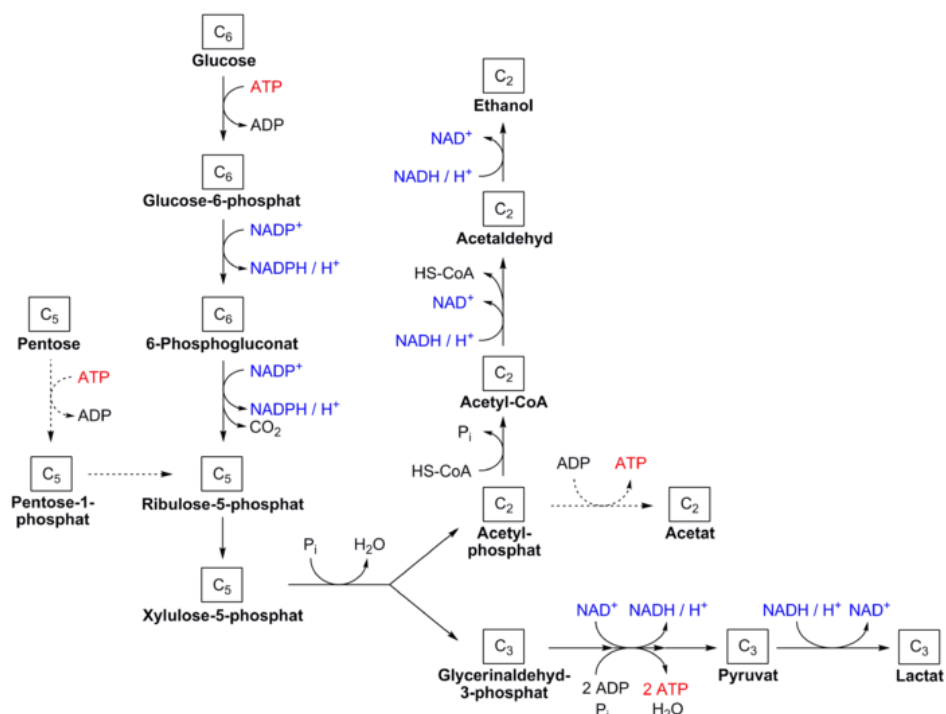
Berdasarkan jenis bakteri yang digunakan fermentasi asam laktat dibagi menjadi dua, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Fermentasi jenis homofermentatif akan dihasilkan produk utama berupa asam laktat, sedangkan fermentasi jenis heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat akan dihasilkan produk samping seperti asam asetat, etanol dan karbon dioksida (CO₂) (Li dan Fengjie, 2009). Beberapa contoh bakteri asam laktat yang merupakan bakteri homofermentatif adalah *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus*; sedangkan contoh bakteri heterofermentatif adalah *Leuconostoc* dan *Lactobacillus* (Abidin, 2016).

Dua jalur utama untuk pemecahan heksosa (glukosa dan galaktosa) dan pentose (xilosa dan arabinosa) oleh bakteri asam laktat adalah jalur Embden-Mayerhof-Parnas (EMP) dan Pentosa Phosphoketolase (PK). Dalam kondisi anaerob bakteri asam laktat homofermentatif mengkatalisis glukosa untuk menghasilkan dua mol piruvat atau campuran asam laktat, asam asetat dan etanol pada bakteri asam laktat heterofermentatif. Tahapan pemecahan glukosa ditunjukkan pada Gambar 2.1 (Li dan Fengjie, 2009).

Bakteri asam laktat homofermentatif akan mengkatalisis satu mol glukosa menjadi dua mol asam laktat melalui jalur EMP (Gambar 2.1 rute c). Secara garis besar jalur EMP dikelompokkan menjadi dua tahapan. Tahap pertama, glukosa

diubah menjadi triosafosfat (Gliseraldehid-3-fosfat) dengan proses fosforilasi. Tahapan ini melibatkan 2 ATP yang diubah menjadi ADP. Tahap kedua, dimulai dari reaksi oksidasi triosafosfat hingga terbentuk asam laktat. Pada tahap ini dihasilkan 4 ATP namun hasil bersihnya hanya 2 ATP karena 2 ATP yang lain digunakan pada tahap pertama (Poedjiadi, 2012).

Bakteri asam laktat heterofermentatif akan merubah glukosa menjadi asam laktat, etanol dan karbon dioksida melalui jalur PK (Gambar 2.1 rute c). pada jalur PK Satu mol glukosa-6-fosfat pada awalnya didehidrogenasi menjadi 6-fosfogluconat dan kemudian dekarboksilasi untuk menghasilkan satu mol CO₂. Ribulosa-5-fosfat yang dihasilkan dibelah menjadi satu mol gliseraldehid-3-fosfat dan satu mol asetil fosfat. Gliseral dehid-3-fosfat lebih lanjut dimetabolisme menjadi asam laktat, sedangkan asetil fosfat direduksi menjadi etanol melalui intermediet asetil-KoA dan asetaldehida (Li dan Fengjie, 2009).



Gambar 2.1 Jalur Fermentasi Bakteri Asam Laktat

2.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi efisiensi fermentasi

Efisiensi fermentasi menunjukkan optimal atau tidaknya suatu fermentasi, karena dengan optimalnya fermentasi tersebut maka akan diperoleh produk yang maksimal dengan sedikit hasil samping. Efisiensi fermentasi didefinisikan sebagai perbandingan kadar asam laktat hasil analisis dengan kadar asam laktat teoritis. Efisiensi fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pH, suhu, konsentrasi substrat dan konsentrasi inokulum (Iswanto, 2014).

2.5 Konsentrasi Inokulum

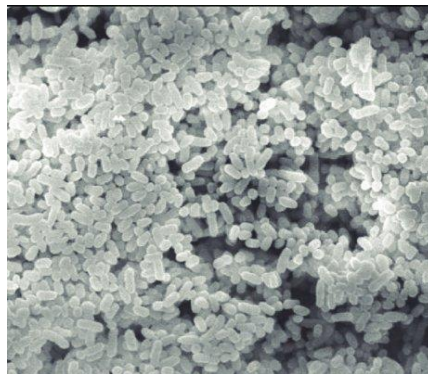
Inokulum merupakan biakan bakteri yang dimasukkan kedalam media cair yang siap digunakan untuk fermentasi (Pelczar dkk, 2007). Kadar inokulum pada fermentasi menunjukkan pengaruh terhadap produk fermentasi. Franca dkk., (2009) melakukan penelitian produksi asam laktat dengan menggunakan substrat tetes tebu (molase) oleh bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan variasi konsentrasi inokulum 2,5-15% dan diperoleh konsentrasi asam laktat maksimum 101 g/L pada perlakuan konsentrasi inokulum 5%.

2.6 *Weissella confusa*

Weissella confusa merupakan bakteri probiotik yang memiliki kemampuan bertahan pada pH asam. Bakteri ini tergolong bakteri asam laktat karena kemampuannya menghasilkan asam laktat, bakteriosin dan juga hidrogen peroksida jika substrat yang mereka tempati mendukung untuk menghasilkan ketiga metabolit sekunder tersebut. Adanya ketiga metabolit sekunder inilah yang berperan

menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri patogen pada sistem pencernaan ikan (Tatiana, *et al.*, 2001). Klasifikasi bakteri *Weissella confusa* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Leuconostocaceae
Genus	: <i>Weissella</i>
Spesies	: <i>Weissella confusa</i>



Gambar 2.2 *Weissella confusa* (www.cdc.gov)

Allah SWT sering membuat perumpamaan untuk menjelaskan kebenaran dan hakikat yang luhur dengan bermacam-macam makhluk hidup, baik yang kecil maupun yang besar. Dalam surat Al Baqarah ayat 26 Allah berfirman :

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ
أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۚ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۖ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا
وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya “ sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk

atau yang lebih kecil dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, mereka tahu bahwa itu kebenaran dari Tuhan. Tetapi mereka yang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan perumpamaan itu banyak orang yang dibiarkan-Nya sesat, dan dengan itu banyak (pula) orang yang diberi-Nya petunjuk. Tetapi tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu selain orang-orang fasik.

Disini dijelaskan sesungguhnya Allah tidak merasa segan atau malu untuk membuat perumpamaan bagi sebuah kebenaran dengan seekor nyamuk atau kutu yang sangat kecil atau lebih kecil dari itu. Kendati kecil, belalainya dapat menembus kulit gajah. Begitupula dengan bakteri yang berukuran sangat kecil bahkan tidak terlihat oleh kasat mata, dalam penciptaannya tentusaja memiliki hikmah dan manfaat. Pada penelitian ini, digunakan bakteri *Weissella confusa* yang termasuk jenis kategori bakteri asam laktat untuk memproduksi asam laktat yang nantinya asam laktat itu digunakan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Guna memperdalam ilmu pengetahuan dan teknologi dalam upaya pemanfaatan bakteri, manusia dituntut untuk berilmu dan berakal.

2.7 Pengukuran Kadar Total Gula Metode Sulfat Fenol

Pengukuran kadar karbohidrat dilakukan dengan metode sulfat fenol. Metode ini merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menemukan konsentrasi karbohidrat dalam larutan (Albalasmeh, dkk., 2013). Prinsip dasar metode ini adalah dehidrasi karbohidrat oleh asam sulfat pekat membentuk senyawa furfural yang bereaksi dengan fenol menghasilkan senyawa berwarna jingga kekuningan yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang yang digunakan dalam pengukuran ini adalah 490 nm.

Metode ini dapat mengukur dua molekul gula pereduksi. Gula sederhana,

oligosakarida dan turunannya yang dapat dideteksi dengan fenol dalam asam sulfat yang pekat yang akan menghasilkan warna jingga kekuningan yang stabil. Metode ini mampu mendeteksi dua gula reduksi karena sukrosa yang ada dihidrolisis dahulu menjadi dua molekul glukosa sehingga dapat mengetahui gula pereduksi total. Penentuan glukosa menggunakan metode fenol-asam sulfat yang disebut juga metode TS (Total Sugar) yang digunakan untuk mengukur total gula (Nurjannah, 2019)

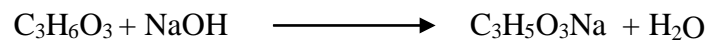
Penambahan asam laktat dan pemanasan pada karbohidrat akan menghasilkan senyawa turunan furan seperti furanaldehid dan hidroksimetil furaldehida. Beberapa senyawa turunan furan yang terbentuk tergantung dari jenis karbohidrat ditunjukkan pada Gambar 2.4 (Cui, 2005). Reaksi awal yaitu dehidrasi diikuti dengan pembentukan furan.

2.8 Pengukuran Total Asam Laktat Metode Titrimetri

Titration untuk penentuan kadar asam laktat adalah titration asam basa (netralisasi). Titration netralisasi digunakan untuk menentukan kadar analit yang bersifat asam atau basa (Gusdinar, 2008). Pengamatan titik akhir titration pada titration asam basa dapat ditentukan dengan penambahan indikator. Salah satu indikator yang digunakan pada titration asam basa adalah fenolftalein (pp) (Underwood, 2001).

Asam laktat diukur melalui metode titration, total asam secara tidak langsung menunjukkan asam laktat yang dihasilkan. Metode titration hanya mengukur titik ekuivalen dimana asam yang terbentuk selama proses fermentasi akan dinetralkan dengan basa NaOH. Kekurangan metode ini adalah adanya kemungkinan kesalahan penentuan titik akhir titration. Meskipun demikian, metode ini telah banyak digunakan

oleh peneliti sebelumnya. Metode ini mudah digunakan, harganya murah serta mudah ditemukan di laboratorium (Nurjannah, dkk.,2017). Asam laktat dititrasi menggunakan basa NaOH menghasilkan garam natrium laktat dan air. Adapun reaksi yang terjadi antara asam laktat dan basa NaOH adalah sebagai berikut (Abidin, 2016):



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2021, di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu preparasi air kelapa, penentuan kadar gula sampel, preparasi biakan bakteri, fermentasi asam laktat dan penentuan kadar asam laktat. Alat-alat yang dibutuhkan pada tahap penentuan kadar glukosa dalam sampel adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, penangas, pipet ukur 5 mL, bola hisap, hotplate dan spektrofotometer UV-Vis. Tahap selanjutnya yaitu preparasi biakan bakteri, alat yang digunakan adalah erlenmeyer 500 mL dan 250 mL, neraca analitik, spatula, gelas arloji, stirrer, hotplate, autoklaf, jarum ose, shaker, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, laminar dan cawan petri.

Tahap selanjutnya yaitu proses fermentasi dan penentuan kadar asam laktat, alat yang dibutuhkan pada tahap ini adalah erlenmeyer, autoklaf, shaker, sentrifuge, statif dan buret.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah air kelapa yang diperoleh dari perdagangan pasar Landungsari Malang, molase, biakan *Weissella confusa*, media MRSA (Man, Rogosa and Sharpe Agar) (Merck), media MRSB (Man, Rogosa and Sharpe Broth) (Merck), glukosa p.a, akuades, fenol 5% (Merck), fenolftalein, Natrium hidroksida 0,1 N, alkohol 70 % untuk 25 desinfektan, spiritus, alumunium foil, kertas label, tissue, kapas secukupnya, H₂SO₄ 98% (Merck), NaCl 0,9%.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor, yaitu konsentrasi molase terdiri dari (M1= 5%, M2= 10%, M3= 15%). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 (tiga) kali. Kombinasi perlakuan konsentrasi substrat dan inokulum dapat digambarkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Molase

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
M1	M1.1	M1.2	M1.3
M2	M2.1	M2.2	M2.3
M3	M3.1	M3.2	M3.3

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi substrat sedangkan untuk variabel terikatnya adalah kadar asam laktat, pH dan kadar total gula air kelapa.

3.4 Tahap-tahap Penelitian

Tahapan pada penelitian ini adalah:

1. Penentuan kadar gula air kelapa dengan metode sulfat fenol
2. Pembuatan media MRSA dan MRSB
3. Regenerasi *Weissella confusa*
4. Pembuatan Inokulum *Weissella confusa*
5. Perhitungan jumlah total bakteri asam laktat
6. Uji pengaruh variasi konsentrasi molase terhadap produksi asam laktat dari airkelapa menggunakan *Weissella confusa*
7. Analisa kadar asam laktat
8. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Penentuan Kadar Gula Air Kelapa dengan Metode Sulfat Fenol (Dubois,dkk., 1956)

3.5.1.1Pembuatan Kurva Standar

Larutan glukosa dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm masing- masing dimasukkan sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% (b/v) dan dihomogenkan. Ditambahkan 5 mL asam sulfat dan didiamkan selama 10 menit lalu ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.1.2 Penentuan Total Gula Sampel

Sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% (b/v) dan dihomogenkan. Ditambahkan 5 mL asam sulfat dan didiamkanselama 10 menit lalu ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.2 Pembuatan Media MRSA dan MRSB (Chaisu, 2013)

Media MRSA dibuat dengan menimbang 68,2 gram MRSA kemudian dilarutkan dengan 1 liter akuades dan media MRSB dibuat dengan menimbang 55,15 gram MRSB kemudian dilarutkan dengan 1 liter akuades. Kedua media dipanaskan sampe mendidih sambil diaduk hingga larut. Selanjutnya masing-masing media tersebut dimasukkan dalam beberapa erlenmeyer 500 mL dan disterilkan dalam autoklaf.

3.5.3 Regenerasi Bakteri Asam Laktat

Biakan *Weissella confusa* diambil sebanyak dua ose dan digoreskan ke dalam media MRSA. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri harus selalu diregenerasi sebelum diuji untuk mendapatkan biakan bakteri yang sedang berada dalam fase pertumbuhan.

3.5.4 Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat

Dua ose biakan *Weissella confusa* dipindahkan ke dalam 30 mL media MRSB. Selanjutnya dishaker pada kecepatan 100 rpm selama 18 jam pada suhu ruang. Inokulum ini akan digunakan untuk uji selanjutnya.

3.5.5 Pengaruh Penambahan Molase Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa oleh *Weissella confusa*

Air kelapa sebagai substrat diambil 100 mL dan diatur menjadi pH 6,5 kemudian disterilisasi dengan autoklaf. Air kelapa hasil sterilisasi didinginkan dan ditambahkan nutrien berupa *yeast extract*. Selanjutnya, ditambahkan molase masing-masing dengan konsentrasi 5, 10 dan 15% dan ditambahkan inokulum 10% (v/v) lalu dishaker pada suhu ruang selama 24 jam. Cairan hasil fermentasi

disentrifus dan diambil supernatannya. Analisis yang dilakukan meliputi analisis kadar total gula dan kadar asam laktat.

3.5.6 Analisis Kadar Asam Laktat dengan Metode Titrimetri (Purnavita, 2014)

Larutan produk hasil fermentasi diambil 5 mL dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer kemudian diencerkan sampai 100 mL. Selanjutnya, ditambah indikator fenolftalein (pp) 1% sebanyak 2-3 tetes dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah muda. Dihitung kadar asam laktat menggunakan Persamaan 3.1.

$$\text{Kadar asam laktat \%} = \frac{V \times N \times B \times fp \times 100\%}{\text{Volume sampel} \times 1000} \dots\dots\dots (3.1)$$

V = Volume larutan NaOH 0,1 N

N = Normalitas NaOH

B = Bobot setara asam laktat (90 g/mol)

Fp = Faktor pengenceran.

3.5.7 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat (Harmita, dkk., 2008)

Tabung reaksi sebanyak 10 buah diisi dengan NaCl 0,9% steril dengan volume 9 mL. Inokulum *Weissella confusa* diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung lalu dihomogenisasi dan dihitung sebagai pengenceran pertama (10^{-1}). Larutan dari tabung pertama dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung kedua sehingga diperoleh pengenceran tingkat kedua (10^{-2}). Dilanjutkan hingga didapatkan pengenceran (10^{-7}). Penghitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan metode total plate count (TPC). Masing-masing

pengenceran diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan dalam cawan petri yang berisi media MRSA. Didiamkan hingga membeku kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Perhitungan jumlah bakteri ditunjukkan pada Persamaan 3.2.

Perhitungan jumlah bakteri (CFU) = jumlah koloni x 1/fp

3.5.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan One Way Analisa Varian (ANOVA) dengan menggunakan SPSS 21 untuk menguji adanya pengaruh variasi konsentrasi molase terhadap kadar asam laktat. Apabila terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur dengan taraf nyata 5% (BNJ 5%).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi sampel

Air kelapa mengandung berbagai nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Salah satu nutrisi yang terkandung di dalam air kelapa adalah gula. Air kelapa digunakan sebagai media fermentasi produksi asam laktat karena merupakan media alternatif murah pengganti MRSB. Bakteri asam laktat biasanya ditumbuhkan pada media MRS, akan tetapi media MRS kurang efektif untuk digunakan pada skala industri karena harganya yang relatif tinggi (Safitri, dkk., 2016). Sebelum digunakan sebagai media fermentasi, air kelapa dipreparasi dengan melakukan pengaturan tingkat keasaman menjadi pH 6,5 dan penambahan *yeast extract*. Menurut Mataragas, dkk (2003) kisaran pH optimum pertumbuhan bakteri asam laktat adalah 6,0-6,5. Selain itu, pengaturan pH perlu dilakukan karena menurut Ferdaus (2008) kondisi pH media sangat berpengaruh pada jenis mikroba yang tumbuh.

Pengaturan pH dilakukan dengan cara menyetarakan pH 6,5 dari pH awal yaitu 4,5 dengan cara menambahkan larutan NaOH 1 N tetes demi tetes menggunakan alat pH meter. Larutan NaOH berfungsi sebagai penetral karena air kelapa bersifat asam sehingga dinetralkan dengan larutan yang bersifat basa. Air kelapa yang telah dikondisikan pH nya selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave*. Menurut Ma'at (2009) sterilisasi dilakukan untuk menghilangkan segala macam mikroorganisme, baik berupa kuman, virus maupun jamur. Setelah selesai disterilisasi, air kelapa disimpan di dalam freezer yang nantinya akan digunakan sebagai media fermentasi untuk produksi asam laktat.

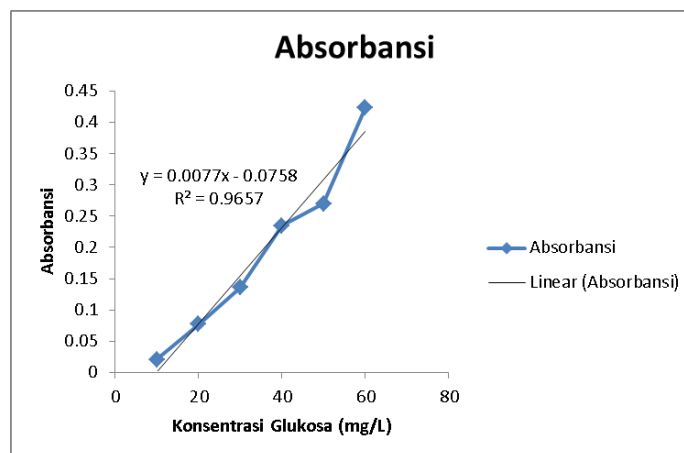
4.2 Penentuan Total Gula Bahan Baku

Produksi asam laktat dengan jalur fermentasi membutuhkan bahan yang mengandung kadar gula yang tinggi, oleh karena itu molase sangat cocok digunakan sebagai bahan baku dalam fermentasi. Kandungan gula dalam molase diantaranya glukosa dan fruktosa 21,7%, sukrosa 34,19%, air 26,46% dan abu 17,26% (Tarigan, 2009). Jenis gula yang terkandung di dalam molase adalah sukrosa. Molase yang akan digunakan sebagai bahan baku dalam fermentasi diukur kadar total gulanya terlebih dahulu menggunakan metode sulfat fenol. Metode ini dapat mengukur dua molekul gula pereduksi. Gula sederhana, oligosakarida dan turunannya dapat dideteksi dengan fenol dalam asam sulfat yang pekat yang akan menghasilkan warna jingga kekuningan yang stabil (Taiyeb at al., 2011).

Metode ini mengukur total gula baik gula yang bersifat reduksi dan non reduksi. Sukrosa yang terkandung di dalam molase termasuk dalam jenis gula non reduksi karena tidak mempunyai gugus OH bebas pada C glikosidik nomer 1 yang ada di aldehyd. Sukrosa yang ada dihidrolisis dahulu menjadi dua mol glukosa sehingga dapat mengetahui gula pereduksi total. Serapan dibaca pada panjang gelombang 490 nm. Hal ini karena warna komplementer (warna yang terlihat) dalam sampel adalah warna jingga (Qalsum, dkk., 2015).

Pengukuran diawali dengan pembuatan kurva standar glukosa. Kurva standar merupakan metode utama yang digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu zat dalam suatu sampel yang tidak diketahui dengan cara membandingkan yang tidak diketahui ke dalam seperangkat sampel standar dari konsentrasi yang telah diketahui. Di dalam kurva standar terdapat hubungan antara konsentrasi glukosa (sumbu x) dan absorbansi masing-masing glukosa (sumbu y). Dari kurva

standar akan diperoleh persamaan untuk mencari konsentrasi zat yang terlarut dalam sampel. Berdasarkan pengujian yang dilakukan menggunakan alat spektrometer UV-Vis diperoleh persamaan yang tertera pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kurva standar glukosa

Berdasarkan kurva standar pada Gambar 4.1 maka dapat ditentukan konsentrasi total gula bahan baku molase yaitu sebesar 53,83%. Penentuan kadar total gula berfungsi untuk mengetahui kadar gula pada molase yang nantinya akan digunakan sebagai bahan baku dalam produksi asam laktat dari bakteri *Weissella confusa*.

4.3 Pembuatan Media *de Man Regose Sharpe Agar* (MRSA) dan *de Man Regose Sharpe Broth* (MRSB)

Media merupakan nutrisi yang disediakan untuk pertumbuhan bakteri selama proses fermentasi, menurut Murwani (2015) menyatakan bahwa media nutrien mengandung semua elemen yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh. Media yang digunakan untuk regenerasi bakteri asam laktat seperti *Weissella confusa* adalah media MRSA sedangkan dalam pembuatan inokulum digunakan

media MRSB. Perbedaan antara MRSA dan MRSB adalah dari segi bentuk fisiknya. MRSA berbentuk padat sedangkan MRSB berbentuk cair. MRS merupakan media kompleks semi sintesis yang selektif untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Feliatra, 2018).

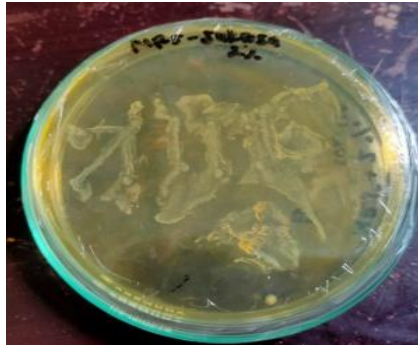
Media MRS memiliki kandungan berupa glukosa, tripton, *yeast extract*, *beef extract*, KH_2PO_4 , natrium asetat anhidrat, ammonium sitrat, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Tween 80 (Du, dkk., 2017). Perbedaan MRSA dengan MRSB hanya pada kandungan agar dalam MRSA sehingga media ini berbentuk padat.

4.4 Regenerasi *Weissella confusa*

Regenerasi bakteri merupakan langkah yang dilakukan untuk menumbuhkan kembali bakteri pada media baru. Peremajaan penting dilakukan untuk mendapatkan biakan bakteri baru yang dapat melakukan fermentasi secara optimal. Menurut Zein (2017) peremajaan bakteri ini penting dilakukan sebab berfungsi untuk mengaktifkan kembali bakteri yang sebelumnya telah inaktif menjadi aktif kembali karena kondisi bakteri inaktif kurang optimal jika digunakan untuk pembuatan inokulum.

Regenerasi bakteri *Weissella confusa* dilakukan dengan menggunakan media MRSA dengan metode gores. Media padat digunakan untuk penyimpanan bakteri serta agar bakteri mudah diamati dan dapat dimanfaatkan untuk penanaman bakteri atau pembuatan inokulum (Wuryanti, dkk., 2010). Regenerasi bakteri dilakukan secara aseptis di laminar dengan menggunakan kawat ose yang telah dipanaskan di atas bunsen untuk menghindari kontaminan dari bakteri lain. Sebanyak dua ose *Weissella confusa* diinokulasikan pada media MRSA padat dan

diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Regenerasi bakteri *Weissella confusa* ditunjukkan pada Gambar 4.1 .



Gambar 4.2 Isolat *Weissella confusa*

4.5 Pembuatan Inokulum

Inokulum merupakan biakan bakteri yang dimasukkan ke dalam media cair yang siap digunakan untuk fermentasi (Pelczar., dkk 2007). Tujuan pembuatan inokulum adalah sebagai starter dalam proses fermentasi. Pembuatan inokulum dilakukan dengan memindahkan dua ose biakan ke dalam media MRSB 30 ml secara aseptis kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Inkubasi dilakukan untuk memproduksi sel bakteri dalam fase eksponensial yang siap digunakan untuk proses fermentasi. Menurut Styati, dkk., (2015) fase eksponensial atau fase pertumbuhan bakteri dicapai pada waktu inkubasi 18 jam yang ditandai dengan adanya kekeruhan pada media inokulum karena terbentuknya suspensi bakteri.

Pertumbuhan bakteri pada media cair membutuhkan waktu yang lebih cepat, hal ini dikarenakan kebutuhan bakteri akan air tercukupi. Air memiliki fungsi penting dari sistem hidup sel, hal ini dikarenakan bagian terbesar dari sel bakteri tersusun atas air serta sebagian besar materi kimiawi larut di dalam air sehingga

terjadi suatu reaksi. Ketahanan hidup sel bergantung dari keseimbangan penyerapan dan pelepasan air (Rahardhianto, dkk., 2012). Inokulum dari *Weissella confusa* ditunjukkan pada Gambar 4.2.

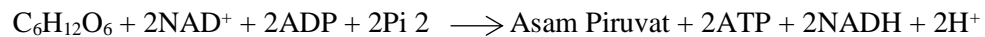


Gambar 4.3 Inokulum *Weissella confusa*

4.6 Pengaruh Konsentrasi Molase terhadap Produksi Asam Laktat

Produksi asam laktat dilakukan dengan menggunakan media air kelapa yang diperkaya *yeast extract* 0,25% dengan penambahan molase pada berbagai konsentrasi yaitu 5, 10 dan 15%. *Yeast extract* digunakan sebagai tambahan sumber nitrogen untuk pertumbuhan BAL (Seesuriyachan, 2011). Selanjutnya ditambahkan inokulum *Weissella confusa* sebesar 5% dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk memproduksi BAL. Inkubasi selama 24 jam dilakukan karena merupakan waktu yang dibutuhkan bagi bakteri untuk mencapai fase stasioner yang mana akan menghasilkan metabolit sekunder.

Selama fermentasi terjadi proses glikolisis yang juga dikenal sebagai jalur Embden-Meyerhof-Parnas atau jalur EMP. Dalam proses ini, terjadi proses respirasi anaerobik yang memecah satu mol glukosa menjadi dua mol asam piruvat. Rumus keseluruhan dari proses glikolisis adalah sebagai berikut :



Pada proses glikolisis, kondisi piruvat bergantung pada ketersediaan oksigen dalam sel. Ketika tidak ada oksigen, piruvat akan dirubah menjadi asam laktat. *Weissella confusa* cenderung merupakan bakteri anaerob. Oleh karena itu, reaksinya merupakan jalur EMP yang mengacu pada homofermentatif.

Proses yang terjadi pada metabolisme karbohidrat yaitu pertama tahapan glikolisis yang merubah glukosa menjadi glukosa-6-fosfat dengan reaksi fosforilasi. Reaksi berikutnya ialah isomerisasi, yaitu pengubahan glukosa-6-fosfat menjadi fruktosa-6-fosfat dengan enzim fosfoglucoisomerase. Selanjutnya, fruktosa-6-fosfat dirubah menjadi fruktosa-1,6-fosfat. Reaksi tahapan keempat dalam rangkaian reaksi glikolisis adalah penguraian molekul fruktosa-1,6-fosfat membentuk 2 molekul triosa fosfat, yaitu dihidroksi aseton dan D-gliseraldehid-3-fosfat. Dalam tahap ini enzim aldolase berperan sebagai katalis. Tahap selanjutnya gliseraldehid-3-fosfat dirubah menjadi 2 piruvat menggunakan enzim piruvatkinase. Enzim ini merupakan katalis pada reaksi pemindahan gugus fosfat dari asam fosfonolpiruvat kepada ADP, sehingga terbentuk asam piruvat. Tahapan terakhir yaitu reaksi yang menggunakan enzim laktat dehidrogenase yaitu pembentukan asam laktat dengan cara mereduksi asam piruvat.

Analisa pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Sebelum digunakan, pH meter dibersihkan dengan aquades dan dikeringkan dengan tissue. Selanjutnya pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer 4 dan 7. Kemudian sampel dianalisis dengan cara dicelupkan ujung katoda ke dalam sampel. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali. Nilai pH setelah fermentasi pada tiap perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kenaikan pH oleh

Weissella confusa berkisar antara 0,02-0,03. Berdasarkan hasil tersebut untuk perlakuan variasi molase yang diberikan tidak terdapat pengaruh dalam nilai pH. Nilai pH dari semua variasi konsentrasi molase masih berada dalam kisaran pH asam. Hasil rata-rata nilai pH tertinggi terdapat pada perlakuan variasi konsentrasi molase 15% yaitu 4,6.

Pengujian kadar asam laktat dilakukan dengan metode titrasi. Total asam secara tidak langsung menunjukkan kadar asam laktat yang terbentuk. Metode titrasi akan mengukur titik ekuivalen, dimana asam laktat akan bereaksi dengan basa NaOH sebagai peniternya. Proses titrasi akan mencapai titi ekuivalen dibantu dengan penambahan indikator PP sehingga terjadi perubahan warna dari bening ke merah muda. Cara untuk menentukan titik akuivalen pada proses titrasi adalah dengan mengamati perubahan warna pada larutan titrat berdasarkan jenis indikator yang digunakan. Titik ekuivalen merupakan keadaan pada saat mol ekivalen asam sama dengan mol ekivalen basa. Rata-rata hasil dari uji total kadar asam laktat dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai rata-rata kadar asam laktat

Konsentrasi Molase (%)	Rata-rata Kadar Asam Laktat (%)
5	0,42
10	0,72
15	0,84

Berdasarkan Tabel 4.2 menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar asam laktat berbeda disetiap variasi penambahan molase. Kadar asam laktat tertinggi diperoleh pada saat penambahan konsentrasi molase 15% yaitu 0,84% dan kadar asam laktat terendah diperoleh pada saat penambahan konsentrasi molase 5% yaitu 0,42%.

Berdasarkan data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi molase yang diberikan maka semakin besar pula produksi asam laktat yang dihasilkan. Penelitian sebelumnya juga mengatakan bahwa seiring dengan meningkatnya konsentrasi molase yang diberikan, maka kadar asam laktat yang dihasilkan juga semakin maksimal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Choelo et al. (2011) melaporkan produksi asam laktat oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* dengan substrat molase dan diperoleh konsentrasi asam laktat maksimum sebesar 94,8 g/L atau setara dengan 9,48% pada saat konsentrasi molase 19,35%. Hasil produksi asam laktat meningkat saat konsentrasi molase yang diberikan juga meningkat juga diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Farooq et al (2012) produksi asam laktat menggunakan substrat molase dengan variasi konsentrasi substrat 6-24% oleh bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dan diperoleh kadar asam laktat tertinggi 77,6 g/L atau setara dengan 7,76% pada perlakuan konsentrasi substrat 18%. Jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan dengan menggunakan substrat yang sama yaitu molase, terdapat perbedaan yang cukup besar pada hasil kadar asam laktat yang diperoleh.

Beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah konsentrasi inokulum dan jenis bakteri asam laktat yang digunakan. Penelitian yang dilakukan sebelumnya menyebutkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi inokulum, maka semakin besar kadar asam laktat yang diperoleh. Franca dkk., (2009) melakukan penelitian produksi asam laktat dengan menggunakan substrat molase oleh bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan variasi konsentrasi inokulum 2,5-15% diperoleh konsentrasi asam laktat maksimum 101 g/L pada perlakuan konsentrasi inokulum 5%. Selain konsentrasi inokulum, jenis bakteri juga

mempengaruhi hasil fermentasi. Vidra, dkk (2017) menggunakan bakteri *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus* sp. MKT878 untuk produksi asam laktat dari molase. Kadar asam laktat tertinggi yaitu 83 g/L dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus* sp. MKT878 menghasilkan 68 g/L. Jadi, dapat disimpulkan bahwa setiap bakteri asam laktat memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan asam laktat. Konsentrasi inokulum yang diberikan juga mempengaruhi hasil kadar asam laktat. Pada penelitian ini tidak diberikan variasi konsentrasi inokulum.

4.7 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat

Uji total BAL bertujuan untuk mengetahui koloni BAL yang terdapat dalam molase. Pengujian total BAL menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Metode ini digunakan untuk mengetahui adanya kemampuan hidup bakteri asam laktat pada media air kelapa yang mengandung molase. Perhitungan dengan metode TPC menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar (Yunita., dkk, 2015).

Langkah-langkah yang dilakukan adalah pertama diencerkan sampel 5 ml dalam larutan NaCl steril 45 ml. Dilakukan sampai pengenceran ke 10^{-7} . Diambil 1 ml dari masing-masing pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-7} . Dimasukkan dalam cawan petri steril. Dituang dan diratakan pada media MRSA steril sampai dasar cawan tertutup. Ditunggu hingga padat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Dicatat pertumbuhan koloni pada setiap cawan yang mengandung koloni.

Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa rata-rata nilai total

BAL pada setiap konsentrasi molase yang diberikan tidak sama. Hasil uji viabilitas yang paling baik terdapat pada saat konsentrasi molase 10% yaitu $1,9 \times 10^{10}$ CFU/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan variasi konsentrasi molase yang diberikan tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah bakteri asam laktat. Lee, dkk (2013) menyebutkan beberapa faktor yang mempengaruhi viabilitas bakteri asam laktat antara lain jenis mikroba, konsentrasi asam laktat yang terbentuk selama fermentasi dan pH setelah fermentasi.

4.8 Tinjauan Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Semua isi bumi diciptakan oleh Allah SWT untuk memenuhi kebutuhan manusia, artinya setiap ciptaanNya memiliki manfaat. Beberapa dapat diambil manfaatnya secara langsung dan beberapa memerlukan proses pengolahan terlebih dahulu untuk dapat dimanfaatkan. Allah SWT berfirman dalam surat Al Baqarah ayat 29 yang berbunyi :

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ
سَمَوَاتٍ ۚ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya “Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit lalu dijadikanNya tujuh langit dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu” (Q.S Al-Baqarah : 29)

Allah SWT juga menciptakan segala sesuatu di muka bumi dengan tidak ada yang sia-sia. Semua yang telah diciptakan oleh Allah pasti ada tujuan dan

hikmahnya. Sebagaimana firman Allah dalam surat Shaad ayat 27 yang berbunyi:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ
كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

۱

Artinya “Dan kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka” (Q.S As-Shaad : 27)

Semua ciptaan Allah memiliki banyak manfaat yang dapat diambil oleh manusia yang berakal dan berilmu. Salah satu contohnya adalah penciptaan tumbuh-tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan dapat memenuhi kebutuhan hidup manusia mulai dari sandang, pangan dan papan. Meskipun demikian, masih banyak manfaat dari tumbuh-tumbuhan yang belum diketahui oleh manusia. Seperti air kelapa yang dapat digunakan sebagai media fermentasi untuk menghasilkan asam laktat.

Produksi asam laktat dilakukan melalui proses fermentasi oleh bakteri asam laktat *Weissella confusa* pada kondisi tertentu sehingga dihasilkan asam laktat. Penelitian ini membuktikan bahwa segala ciptaan Allah SWT benar-benar tidak ada yang sia-sia. Bakteri yang berukuran sangat kecil memiliki tujuan dan hikmah dalam penciptaannya. Seperti bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan asam laktat.

Asam laktat memiliki berbagai manfaat. Beberapa manfaat asam laktat adalah dapat digunakan sebagai pengasam, pengawet makanan, obat-obatan dan kosmetik (Talageni, dkk.. 2014). Selain itu asam laktat merupakan bahan baku dari PLA (*Polylactic Acid*) yang bersifat *biodegradable* yang dapat digunakan sebagai

bahan pembuatan plastik yang ramah lingkungan (Sobrun, dkk., 2012). Oleh karena itu, kita harus berupaya menjaga lingkungan agar tetap sehat serta menghindari sikap mubazir terhadap hasil alam agar diperoleh manfaat bagi kehidupan manusia.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa hasil terbaik produksi asam laktat dengan penambahan konsentrasi molase pada media air kelapa oleh *Weissella confusa* diperoleh pada saat penambahan molase dengan konsentrasi 15% yaitu 0,84%, sedangkan kadar asam laktat terendah diperoleh pada saat penambahan molase dengan konsentrasi 5% yaitu 0,42%. Selanjutnya, kadar asam laktat diperoleh sebesar 0,72% pada saat penambahan molase dengan konsentrasi 10%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk optimasi produksi asam laktat pada pengaruh faktor-faktor yang bisa menghambat penelitian, seperti optimasi pH selama sebelum dan sesudah fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abate, Y. 2016. Synthesis and Production of Lactic Acid (LA) from False Banana/Bula using *Lactobacillus plantarum*. *Tesis*. Ethiopia : Addis Ababa Institute of Technology School of Chemical and Bio-engineering.
- Abidin, A.Z. 2016. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Inokulum *Lactobacillus plantarum* terhadap Produksi Asam Laktat dari Tetes Tebu. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Malang.
- Albalasmeh, A.A., Asmeret, A.B., dan Teamrat A.G. 2013. A New Method for Rapid Determination of Carbohydrate and Total Carbon Concentrations using UV Spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers*, 97: 253–261..
- Buyondo, J.P., dan Shijie, L. 2011. Lactic Acid Production by *Lactobacillus pentosus* from Wood Extract Hydrolysates. *Journal of Science & Technology for Forest Products and Processes*, 1(3).
- Chaisu, K. 2013. Optimzation Lactic Acid Production from Molasses Renewable Raw Material Through Response Surface Methodology with *Lactobacillus casei* M-15. *APCBEE Procedia*, 8: 194-198.
- Coelho, L.F., Cristian, J. Bolner, D.L., Marcela, P.B. Jonas, C. 2011. D(-) Lactic Acid Production by *Leuconostoc mesenteroides* B512 Using Different Carbon and Nitrogen Sources. *Appl Biochem Biotechnol*. 164: 1160-1171.
- Cui, S.W. 2005. *Food Carbohydrates : Chemistry, Physical Properties and application*. Taylor and Francis Group.
- Dubois. 1956. Colorimetric Method for Determination Sugar and Related Substance. *Journal of University of Minnesota*, 28(3): 350-356.
- Du, R., Xing, H., Zhou, Z., dan Han, Y. 2017. Isolation, Characterisation and Fermentation Optimisation of Glucanucrase-Producing *Leuc. mesenteroides* DRP105 from Sauerkraut With Improved Preservation Stability. *International Journal of Food Science and Thecnology*. 52, 2522-2530
- Ferdaus, F., Meliani, O.W., Ery, S.R., Wenny, I. 2008. Pengaruh pH, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Asam Laktat dari Kulit Pisang. *Widya Teknik*. 7 (1): 1-14.

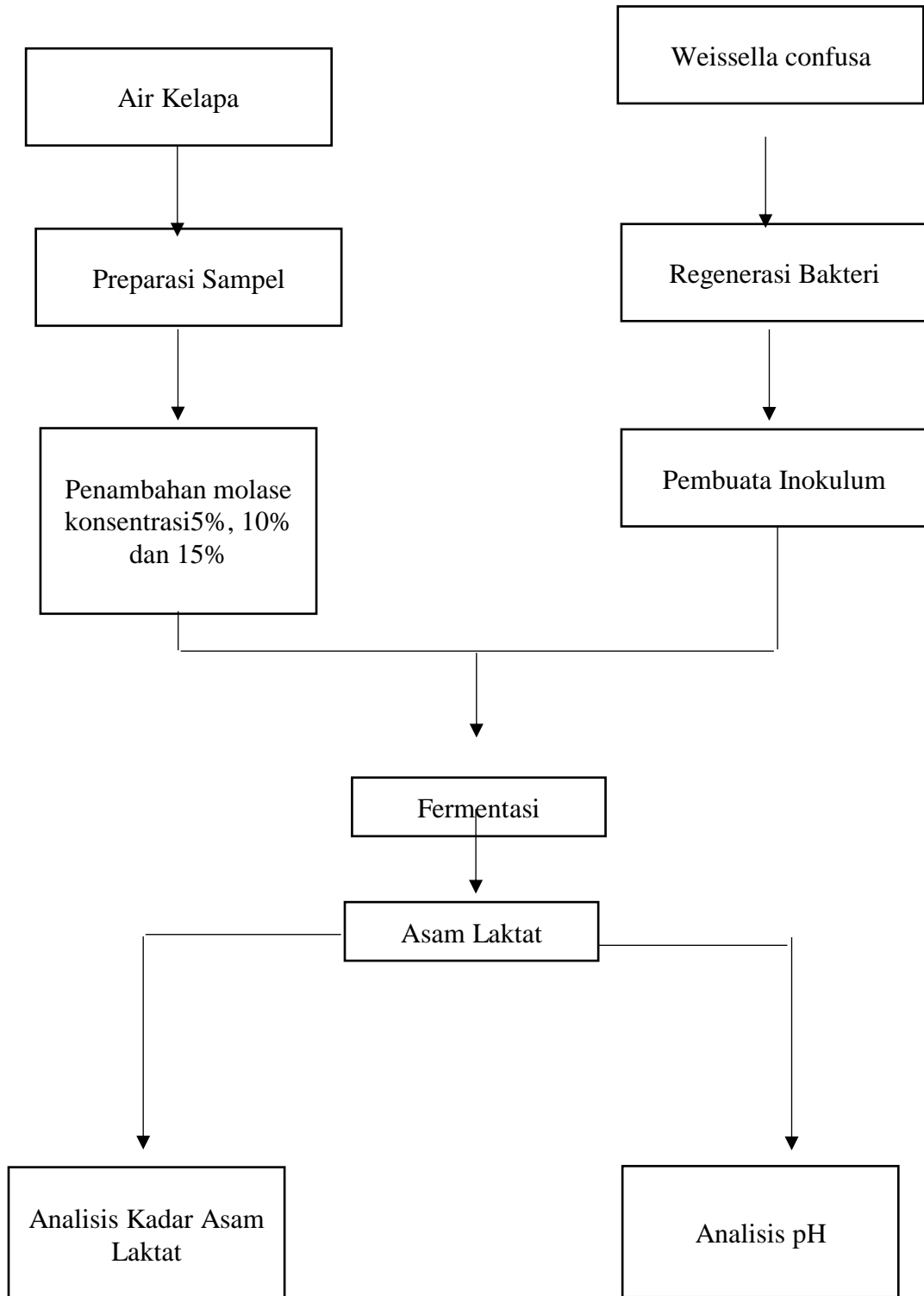
- Franca, F.P., Jesus, A.M., dan Oliveira, F.J.S. 2009. Enhancement of Lactic Acid Fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 6949 using Sugarcane Molasses. *Canadian Journal of Pure and Applied Science*, 3(2) : 773-778.
- Gusdinar, T. 2008. *Titration Netralisasi (Titration Asam-Basa)*. Bandung: Pharmacochemistry Research Group School of Pharmacy ITB.
- Harmita., dan Radji, M. 2008. *Kepekaan Terhadap Antibiotik* Edisi 3. Buku Ajar Analisis Hayati. Jakarta.
- Iswanto, H.P. 2014. Pengaruh Variasi Konsentrasi Substrat dan Inokulum Terhadap Produksi Etanol dari Tetes Tebu Menggunakan Isolat Khamir Kh2 Hasil Isolasi dari Tetes Tebu. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Malang.
- Jin, B., Pinghe, Y., Yihong, M., dan Ling Z. 2005. Production of Lactic Acid and Fungal Biomass by *Rhizopus* Fungi from Food Processing Waste Streams. *Journal of Industry Microbiol Biotechnology*, 32: 678–686.
- Khairunnisa, F. Dan Pato, U. 2016. Perbandingan Aktivitas Antibakteri antara *Lactobacillus casei* subs R-68 dan *Lactobacillus casei* komersil terhadap *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escheria coli* FNCC-19. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Universitas Riau.
- Ma'at, S.. 2009. *Sterilisasi dan Desinfeksi*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Matragas, M., Metaxopoulos, J., Galiotou, M., Drosinos, E.H. 2003. Influence of pH and Temperature by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. *Meat Science*. 64(3) 265-271.
- Matsumo dan Taguci, 2010. *Evaluation of Culture Media with Corn Steep Liquor on Lactic Acid Production by Lactobacillus delbrueckii*. Sess. 46E-16. Annual Meeting and Food Expo.
- Msyuya, N., Katima, J., Masanja, E., dan Temu, AK. 2017. Poly(lactic-acid) Production from Monomer to Polymer: A Review. *Scientific Federation Journal of Polymerscience*, 1(1).
- Nurjannah, L., Suryani., Suminar, S.A., Azmi, A. 2017. Produksi Asam Laktat oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan Sumber Karbon TetesTebu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 9(1).
- Palungkun, R. 1992. *Aneka Produk Tanaman Kelapa*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Pelczar, M. J. 2007. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Poedjiadi, A. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Pramudyanti, I.R., Purwoko, T., dan Pangaastuti, A. 2004. Pengaruh Pengaturan pH dengan CaCO_3 Terhadap Produksi Asam Laktat dari Glukosa oleh *Rhizopus oryzae*. *Bioteknologi*, 1(1): 19-24.
- Purnavita, S., Herman Y.S., dan Sri, H. 2014. Rekayasa Produksi Asam Laktat dari Limbah Ampas Pati Aren sebagai Bahan Baku Poli Asam Laktat. *Momentum*, 10(1): 14-18.
- Qalsum, U., Anang, W.M., dan Supriadi. 2015. Analisis Kadar Karbohidrat, Lemak dan Protein dari Tepung Biji Mangga (*Mangifera indica* L) Jenis Gadung. *Jurnal Akademik Kimia*, 4(4): 168-174.
- Safitri, N., dkk. 2016. Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumber Daya Hayati*. Vol.2 No 2.
- Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Hanmoungjai, P., dan Techapun, C. 2011. Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 using coconut water as an alternative carbon source: the effect of peptone, yeast extract and beef extract. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 33 (4), 379-387.
- Setianingsih, S. 2010. Kajian Senyawa Antimikroba Bakteri Asam Laktat Homofermentatif Isolat ASI. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Sobrun, Y., Archana, B., Dhanjay, J., dan Daneshwar, P. 2012. Isolation of Lactic Acid Bacteria from Sugar Cane Juice and Production of Lactic Acid from Selected Improved Strains. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3: 398-407.
- Srivastanva, A.K., Abhishek, D.T., Alok, J., Amrita, P., dan Nitya, S. 2014. Production, Optimization and Characterization of Lactic Acid by *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2025 from Utilizing Agro-industrial byproduct (Cane Molasses). *Journal Food Science and Technology*.
- Styati, W. A., dkk. 2015. Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimunjawa, Jepara. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol 20(3).
- Suhardiyono, L. 1998. *Tanaman Kelapa*. Yogyakarta: Kanisius.
- Underwood dan Day, R.A. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.

- Vickroy, T.B. 1985. *Lactic Acid*. University of California, USA, in Comprehensive Biotechnology, Vol. 3, ed. Moo Young. New York: Pergamon Press.
- Wuryanti, dkk., 2010. Uji Ekstrak Bawang Bombay sebagai Antibakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram . *jurnal Bioma*. Vol. 12, No. 2.

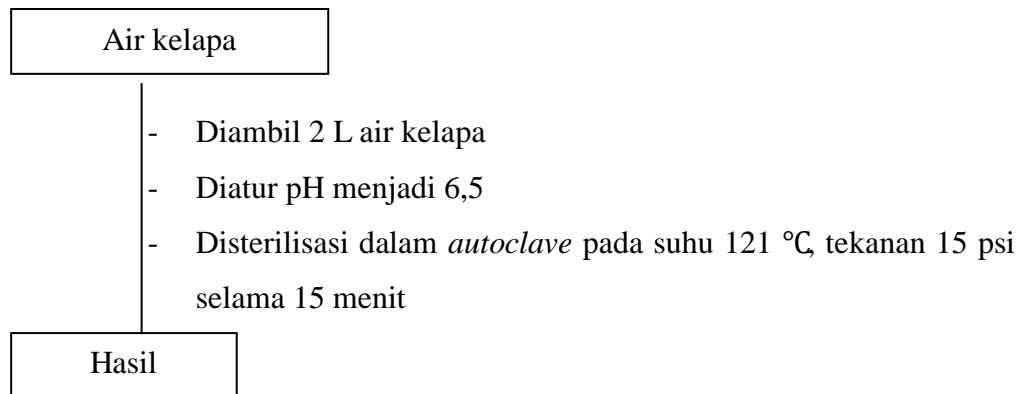
LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian

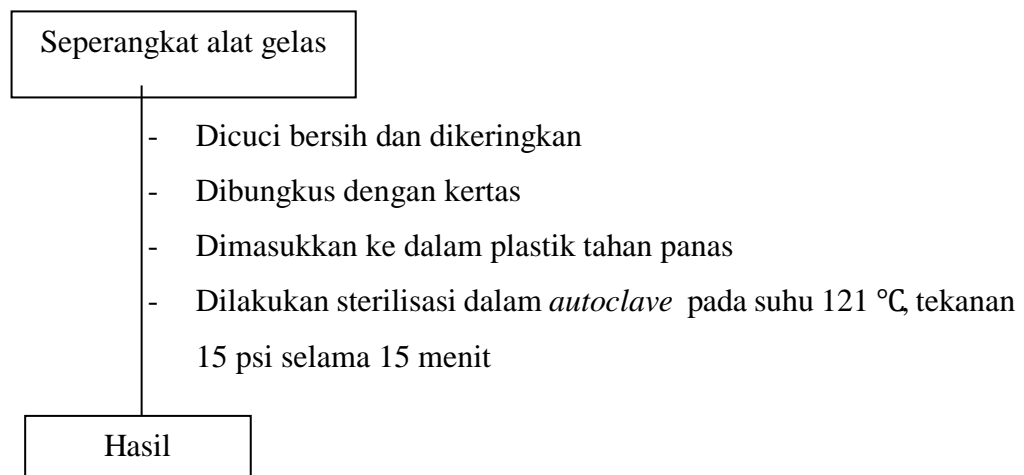


Lampiran 2 Diagram Alir

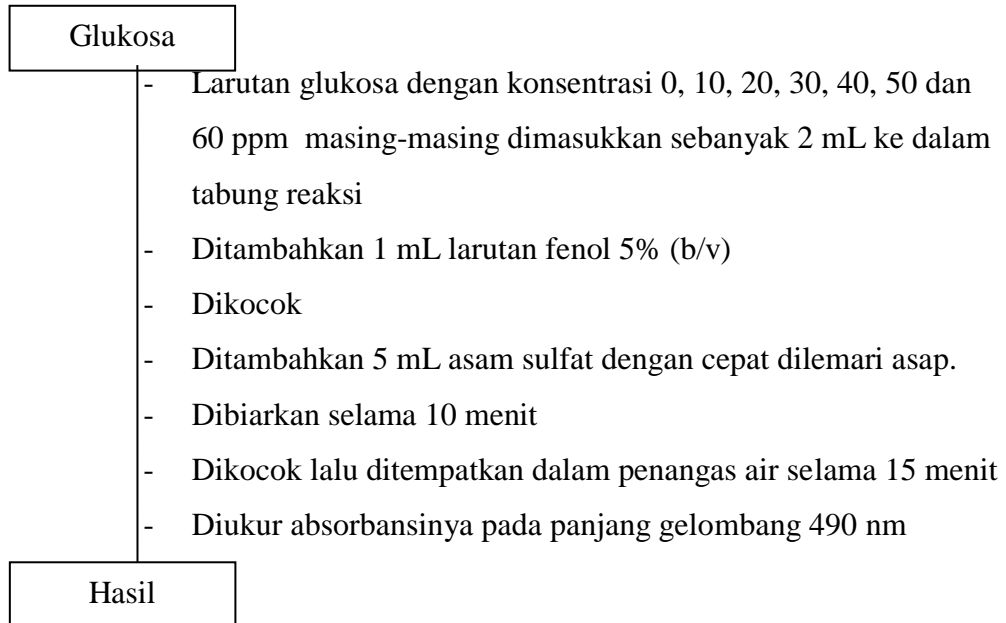
- Preparasi air kelapa



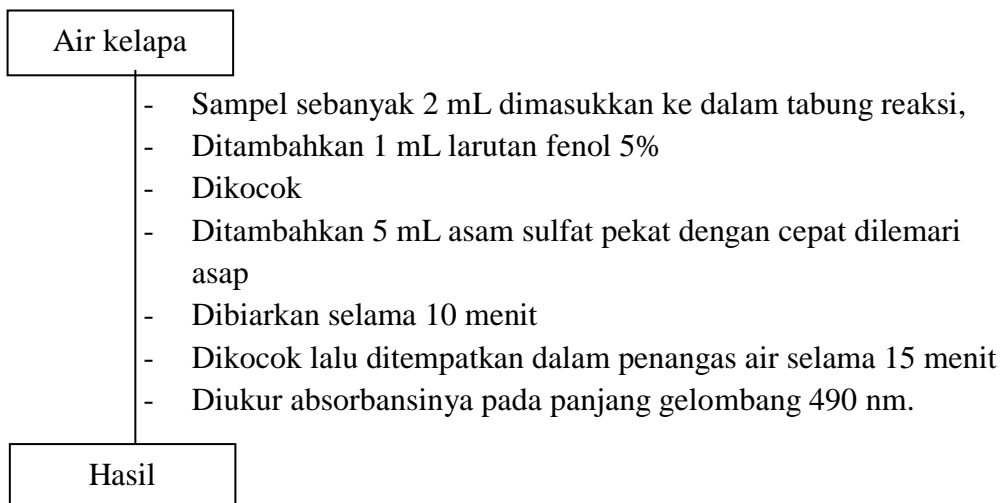
- Sterilisasi alat



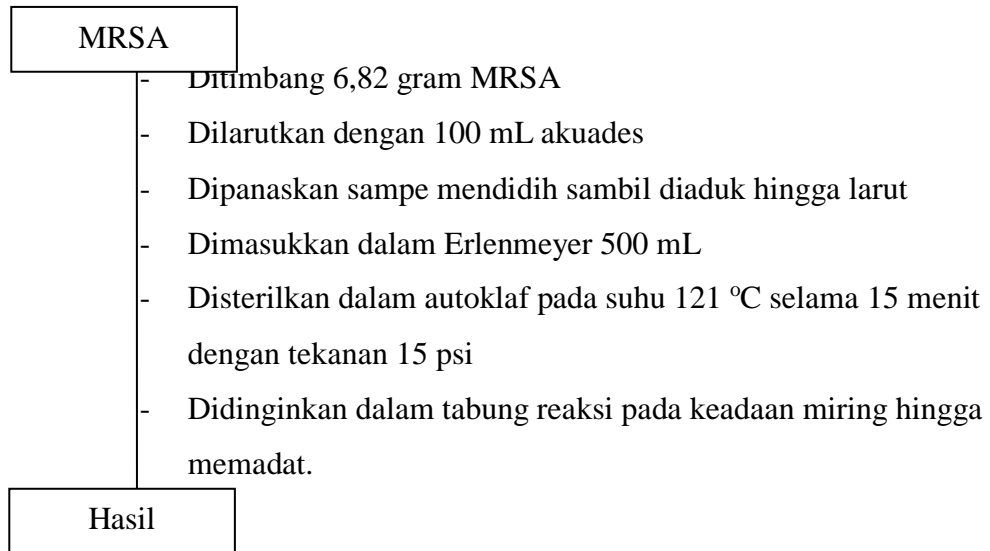
- Pembuatan Kurva Standar dengan Metode Fenol H_2SO_4 (dubois, dkk., 1965)



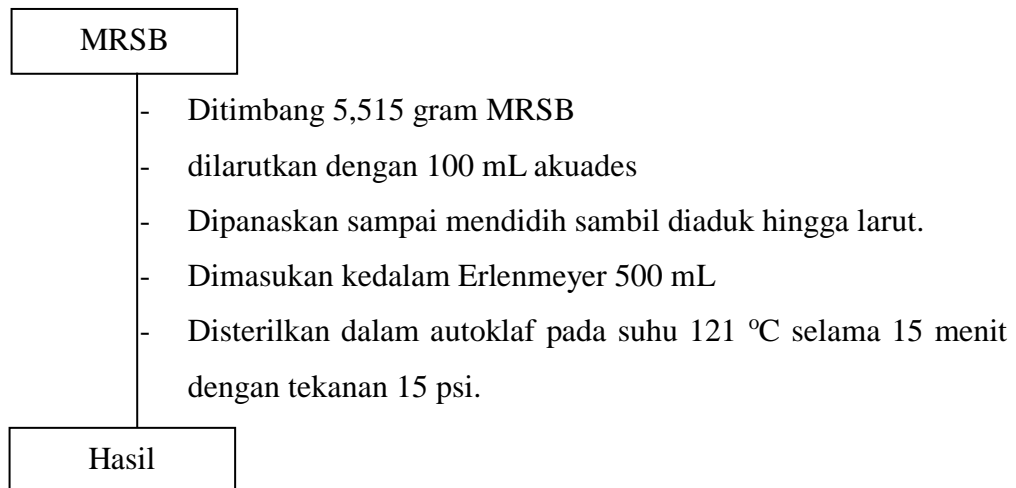
- Penentuan Total Gula Sampel Menggunakan Metode Fenol H_2SO_4 (Dubois, dkk., 1965)



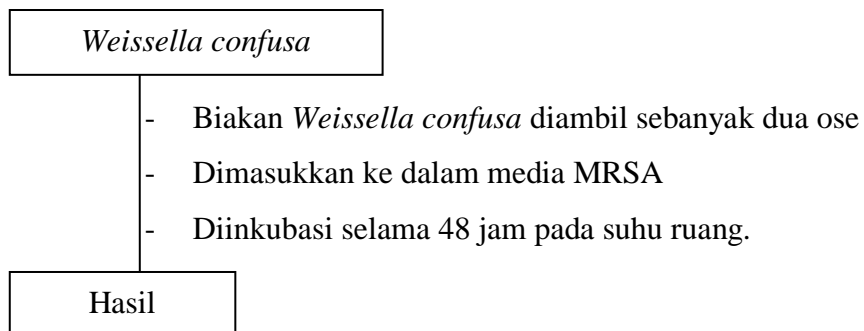
- Pembuatan Media MRSA (*deMan, Rogosa and Sharpe Agar*) (Chaisu, 2013)



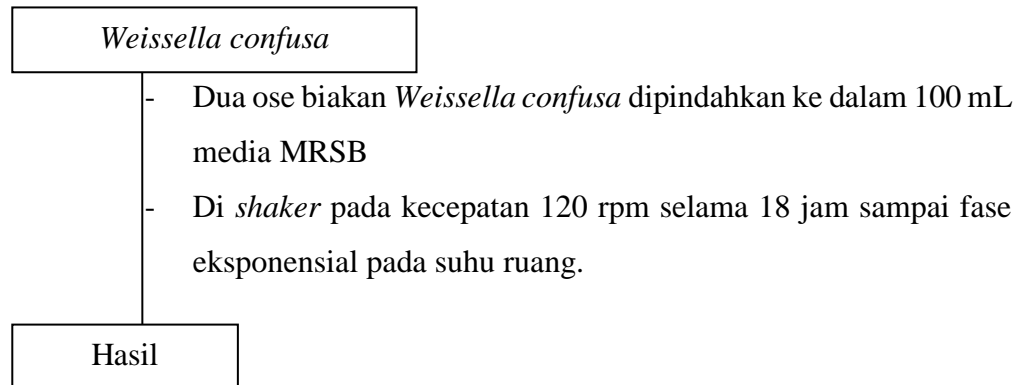
- Pembuatan Media MRSB (*deMan, Rogosa and Sharpe Broth*) (Chaisu, 2013)



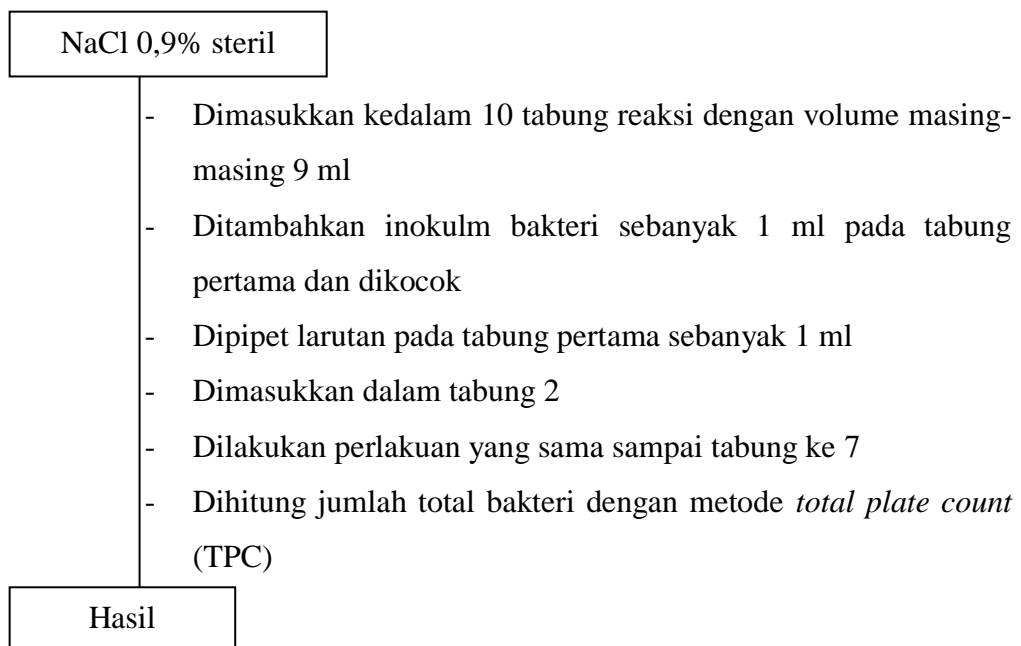
- Regenerasi Bakteri Asam Laktat



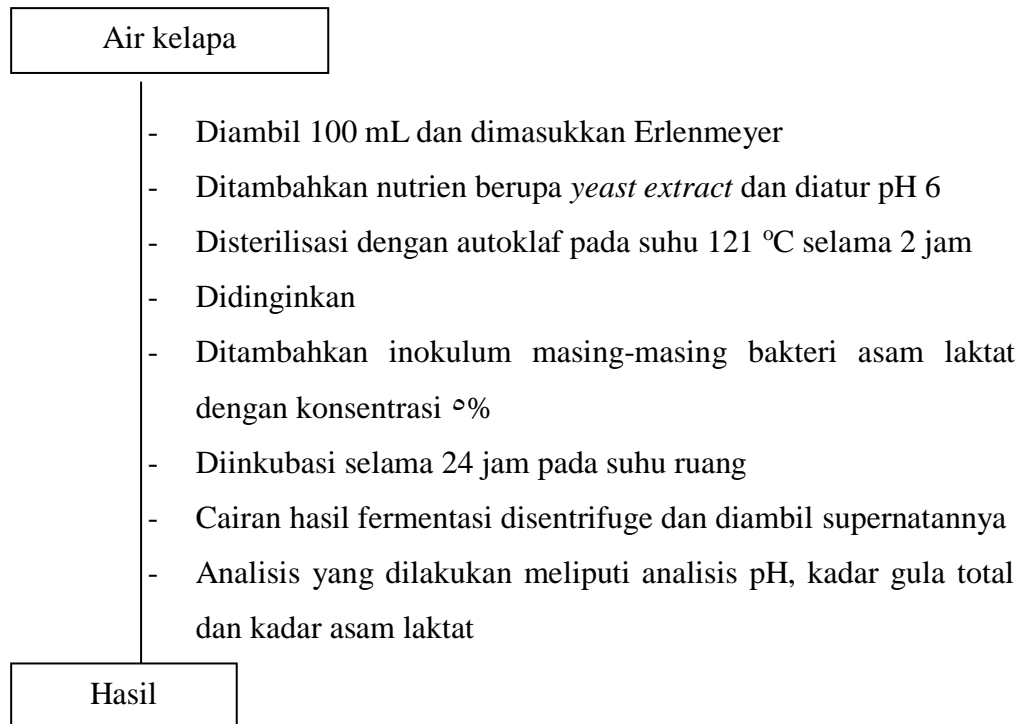
- Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat



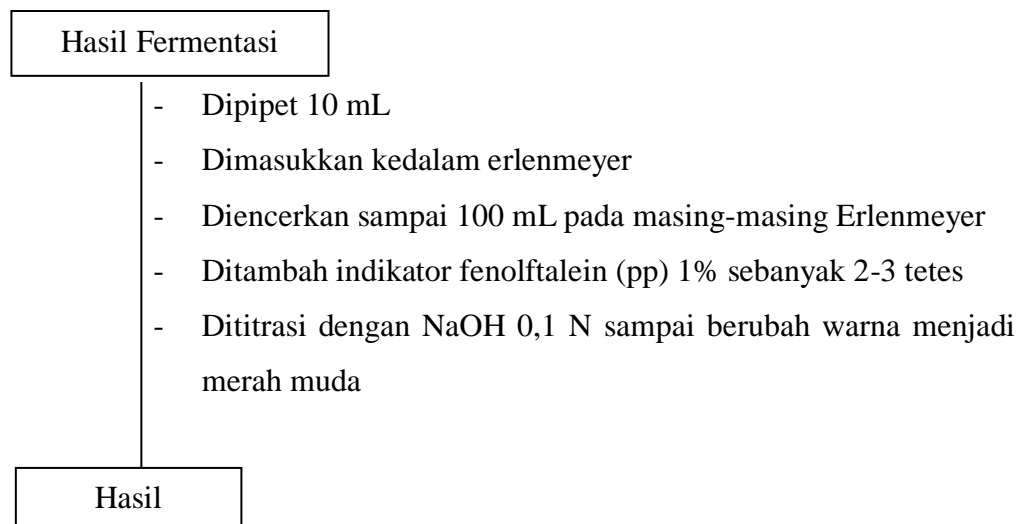
- Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat (Harmita, dkk., 2008)



- Pengaruh Konsentrasi molase Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa



- Analisis Kadar Asam Laktat dengan Metode Titrimetri (Purnavita, 2014)



Lampiran 3 Pembuatan Larutan

➤ Pembuatan Larutan NaOH

$$N = M \times \text{Valensi}$$

$$M = \frac{\text{mol}}{V}$$

$$\text{mol} = \frac{m}{M_r}$$

$$N = \frac{m}{M_r \times V}$$

$$0,1 \text{ N} = \frac{m}{40 \times 0,25 \text{ L}}$$

$$0,1 \text{ N} = \frac{m}{10}$$

$$m = 0,1 \times 10$$

$$m = 1 \text{ gram}$$

Ket : m : massa NaOH

M_r : massa relative NaOH (40 g/mol)

Cara pembuatan : Ditimbang 1 gram NaOH dan dimasukkan kedalam beaker glass 100 mL kemudian ditambah aquades secukupnya sampai NaOH larut. Selanjutnya dimasukkan larutan kedalam labu ukur 250 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan.

➤ Pembuatan Konsentrasi Glukosa Standar 10, 20,30, 40, 50, dan 60 ppm

$$\text{Stok glukosa baku} = \frac{m}{V}$$

$$= \frac{50 \text{ mg glukosa}}{0,05 \text{ L}}$$

$$= 1000 \text{ ppm}$$

Cara pembuatan larutan stok 1000 ppm yaitu, ditimbang glukosa sebanyak 50 mg. kemudian dimasukkan kedalam beaker glass, selanjutnya ddimbahkan dengan aquades secukupnya sampai glukosa larut. Kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, kemudian ditandabatasskan dan dihomogenkan. Larutan ini akan digunakan sebagai larutan stok untuk pembuatan larutan glukosa standar.

Pembuatan larutan glukosa standar 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm dapat dilakukan dengan pengenceran larutan stok glukosa baku. Pembuatan larutan glukosa tersebut dapat dilakukan sebagai berikut :

- a. Konsentrasi 10 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

- b. Konsentrasi 20 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

- c. Konsentrasi 30 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 30 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL}$$

- d. Konsentrasi 40 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

e. Konsentrasi 50 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

f. Konsentrasi 60 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

➤ **Pembuatan Larutan NaCl 0,9%**

Cara pembuatan larutan NaCl 0,9% dibuat dengan menimbang sebanyak 0,9 gram NaCl dan dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL.

➤ **Pembuatan Larutan Fenol 0,5%**

Cara pembuatan larutan fenol 5% dibuat dengan menimbang sebanyak 5 gram fenol dan dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL.

➤ **Kadar Asam Laktat**

Tabel L.3.1 Volume Titration

Konsentrasi Molase (%)	Ulangan		
	1	2	3
5	0,4	0,5	0,5
10	0,8	0,8	0,8
15	0,9	1	0,9

Tabel L.3.2 Kadar Asam Laktat

Konsentrasi	Ulangan	Rata-rata
-------------	---------	-----------

Molase (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	(%)
5	0,36	0,45	0,45	0,42
10	0,72	0,72	0,72	0,72
15	0,81	0,9	0,81	0,84

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{V \times N \times 0,09 \times fp}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Konsentrasi Molase 5%

- $= \frac{0,4 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,36 \%$
- $= \frac{0,5 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,45 \%$
- $= \frac{0,5 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,45 \%$

Konsentrasi Molase 10%

- $= \frac{0,8 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,72 \%$
- $= \frac{0,8 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,72 \%$
- $= \frac{0,8 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,72 \%$

Konsentrasi Molase 15%

- $= \frac{0,9 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,81 \%$
- $= \frac{1 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,9 \%$
- $= \frac{0,9 \text{ ml} \times 0,1 \text{ N} \times 0,09 \times 10}{10 \text{ gr}} \times 100\% = 0,81 \%$

• Ph Asam Laktat

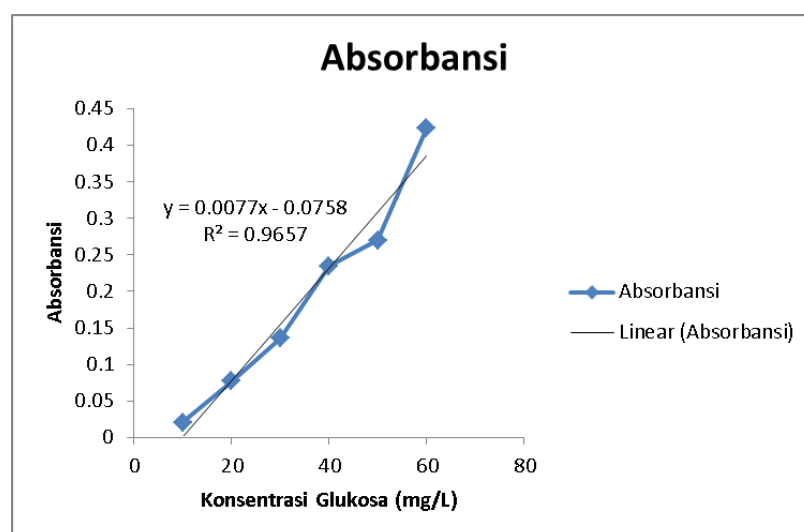
➤ **Tabel L.3.3 pH Asam Laktat**

Konsentrasi Molase (%)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
5	4,3	4,1	4,0	4,1
10	4,4	4,4	4,4	4,4
15	4,5	4,6	4,6	4,6

• Kurva Standar Glukosa

Tabel L. 3.4 Data absorbansi glukosa

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,0284
20	0,0774
30	0,1359
40	0,2349
50	0,2783
60	0,4240

**Gambar 3.1 Kurva Standar Glukosa**

- Analisa Kadar Gula Bahan Baku Molase**

Analisa kadar gula molase dilakukan dengan menimbang 0,02 mg dilarutkan dalam aquades 250 mL. kemudian diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan larutan fenol 5% sebanyak 2 ml dan asam sulfat pekat sebanyak 5 ml. Selanjutnya dipanaskan dengan penangas air mendidih selama 15 menit. Kemudian dihitung absorbansi gula total molase menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Data hasil absorbansi gula total molase yaitu 0,2558.

Data absorbansi molase setelah fermentasi tersebut diplotkan ke dalam

persamaan regresi dari kurva standard glukosa yaitu $y = 0,0077x - 0,0758$ dengan y adalah absorbansi bahan baku dan x variable yang dicari yaitu konsentrasi gula yang terkandung dalam bahan baku sebelum fermentasi. Perhitungannya sebagai berikut:

$$y = 0,0077x - 0,0758$$

$$0,2558 = 0,0077x - 0,0758$$

$$0,2558 + 0,0758 = 0,0077x$$

$$0,3316 = 0,0077x$$

$$X = 43,06 \text{ mg/L (konsentrasi sesuai kurva)}$$

$$\text{Konsentrasi analisa} = \frac{20 \text{ mg}}{0,25 \text{ L}} = 80 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar gula molase} = 43,06 \times \frac{100\%}{80} = 53,83\%$$

- **Uji Viabilitas**

Tabel L.3.5 Perhitungan BAL pada Media Molase 10%

Pengenceran	Ulangan	
	1	2
10^{-5}	Sp	Sp
10^{-6}	Sp	Sp
10^{-7}	176	185

Tabel L.3.6 Perhitungan BAL pada Media Molase 15%

Pengenceran	Ulangan	
	1	2
10^{-5}	Sp	Sp
10^{-6}	145	96
10^{-7}	60	63

- Pengenceran $10^{-7} = 176 \times \frac{10^7}{0,1} = 1,8 \times 10^{10} \text{ CFU/ml}$

- Pengenceran $10^{-7} = 185 \times \frac{10^7}{0,1} = 1,9 \times 10^{10}$ CFU/ml

$$\text{Rata-rata} = \frac{1,8 \times 10^{10} + 1,9 \times 10^{10}}{2} = 1,9 \times 10^{10} \text{ CFU/ml}$$

$$\frac{60 \times 10^7}{145 \times 10^6} = \frac{60 \times 10^7}{14,5 \times 10^7} = 4,14 > 2$$

- Pengenceran $10^{-6} = 145 \times \frac{10^6}{0,1} = 1,5 \times 10^9$ CFU/ml

$$\frac{63 \times 10^7}{96 \times 10^6} = \frac{63 \times 10^7}{9,6 \times 10^7} = 6,56 > 2$$

- Pengenceran $10^{-6} = 96 \times \frac{10^6}{0,1} = 9,6 \times 10^8$ CFU/ml

$$\text{Rata-rata} = \frac{1,5 \times 10^9 + 9,6 \times 10^8}{2} = 1,2 \times 10^9 \text{ CFU/mL}$$

Lampiran 4. Data SPSS

1. Data Produksi Asam Laktat

Descriptives

produksi asam laktat %

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
5%	3	.4200	.05196	.03000	.2909	.5491	.36	.45
10%	3	.7200	.00000	.00000	.7200	.7200	.72	.72
15%	3	.8400	.05196	.03000	.7109	.9691	.81	.90
Total	9	.6600	.19092	.06364	.5132	.8068	.36	.90

Test of Homogeneity of Variances

produksi asam laktat %

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.000	2	6	.020

ANOVA

produksi asam laktat %

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.281	2	.140	78.000	.000
Within Groups	.011	6	.002		
Total	.292	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: produksi asam laktat %

	(I) molase	(J) molase	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	5%	10%	-.30000*	.03464	.000	-.3848	-.2152
		15%	-.42000*	.03464	.000	-.5048	-.3352
	10%	5%	.30000*	.03464	.000	.2152	.3848
		15%	-.12000*	.03464	.013	-.2048	-.0352
	15%	5%	.42000*	.03464	.000	.3352	.5048
		10%	.12000*	.03464	.013	.0352	.2048

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

produksi asam laktat %

	Molase	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey B ^a	5%	3	.4200		
	10%	3		.7200	
	15%	3			.8400

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

2. Data pH Asam Laktat

Descriptives

pH						
N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	Minimum	Maximum

					Lower Bound	Upper Bound		
1	3	4.133	.1528	.0882	3.754	4.513	4.0	4.3
2	3	4.400	.0000	.0000	4.400	4.400	4.4	4.4
3	3	4.567	.0577	.0333	4.423	4.710	4.5	4.6
Total	9	4.367	.2062	.0687	4.208	4.525	4.0	4.6

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.287	2	.143	16.125	.004
Within Groups	.053	6	.009		
Total	.340	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: pH

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	1	2	-.2667*	.0770	.031	-.503	-.030
		3	-.4333*	.0770	.003	-.670	-.197
	2	1	.2667*	.0770	.031	.030	.503
		3	-.1667	.0770	.157	-.403	.070
	3	1	.4333*	.0770	.003	.197	.670
		2	.1667	.0770	.157	-.070	.403
LSD	1	2	-.2667*	.0770	.013	-.455	-.078
		3	-.4333*	.0770	.001	-.622	-.245
	2	1	.2667*	.0770	.013	.078	.455
		3	-.1667	.0770	.074	-.355	.022
	3	1	.4333*	.0770	.001	.245	.622
		2	.1667	.0770	.074	-.022	.355

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Ph

	molase	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	1	3	4.133	

	2	3		4.400
	3	3		4.567
	Sig.		1.000	.157

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 4 Dokumentasi



Gambar L.5.1 Air kelapa



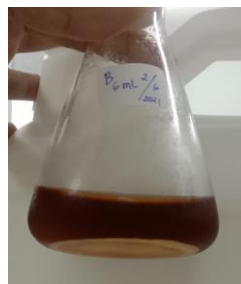
Gambar L.5.2 Media MRSA



Gambar L.5.3 Media MRSA



Gambar L.5.4 Regenerasi *Weissella confusa*



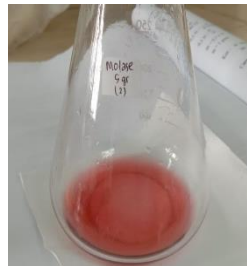
Gambar L.5.5 Inokulum Kerja



Gambar L.5.6 Bakteri *Weissella confusa* yang ditambahkan



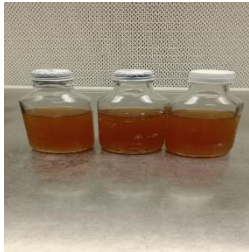
Gambar L.5.7 Produksi asam laktat



Gambar L.5.8 Titrasi penentuan kadar asam laktat



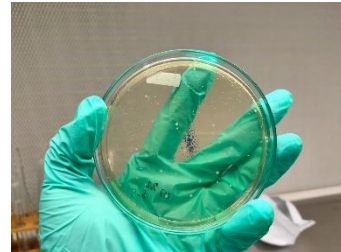
Gambar L.5.9 Pengukuran pH



Gambar L.5.10 Media
tanpa molase



Gambar Uji total gula
metode sulfat fenol



Gambar L.5.12 Uji
viabilitas